

モルモット実験結核症に対する いわゆる丸山ワクチン(結核菌体抽出物質)の効果について

植 原 哲

*国立療養所清瀬病院(院長 島村喜久治)
指導 結核予防会結核研究所長 岩崎竜郎
指導 日本医科大学教授 丸山千里

受付 昭和38年8月28日

緒 言

結核免疫における体液のおよび、細胞的研究は、多年にわたり行なわれてきた。しかし、本疾患における抵抗性獲得の機作については、未だ満足すべき説明がない^{1)~4)}。Kochan および Raffel⁵⁾ は結核罹患ならびに、BCG 免疫モルモット血清中には結核菌発育抑制の強い画分があり、その抑制因子は高度且つ特異的に制結核菌活性を有し、また電気泳動的には α -glob. と同一の泳動を示すことを報告した。

一方、Cole および Favour⁶⁾ は、ツベルクリン PPD ならびに、Tuberculopolysaccharide にそれぞれ対応するタンパク分層、その抗体価、その他との関係を研究し、結核菌により感作されたモルモットにおいて Tuberculopolysaccharide に対応する画分は、Cohn⁷⁾ の画分 II (γ -glob.) に局在し、Tuberculo-protein に対応する抗体は、主として画分 IV (α -glob.) に含まれると結論した。

また Choucroun⁸⁾ は、結核症に対し十分抵抗を示す動物においては、Polysaccharide に対応する抗体が大きな意義を有すると想定している。

また Seibert 一派⁹⁾ は、抗体導入体としての Tuberculopolysaccharide の意義を研究し、結核症における血清中の多糖体量の増加を指摘し、それが α -glob. 画分中の糖タンパク体であることを明らかにし、Tuberculopolysaccharide および血中 α -glob. につき、いくつかの論議を試みている。

以上、実験結核症に対する抵抗性の獲得は、菌体のタンパクあるいは、多糖体の抗原性の特性を解析すること

により解明されようとしている現況と思われる。

1944 年以来、丸山および協同研究者^{10)~26)} は、彼らの Tuberclovaccin (丸山ワクチン) の皮膚および、肺結核に対する治療効果の研究を行なっているが、本物質は主として多糖体よりなる。著者は丸山ワクチンのモルモット実験結核症に対する効果の研究を行ない、ワクチン単独治療群では高濃度が良成績を示し、ストマイとワクチン併用治療群ではその一部において、むしろワクチン濃度の高い群が肉眼的病理所見でやや劣る結果を得たことを報告した¹⁹⁾。

本報では、H₂Rv 感染モルモットの血清分層の免疫学的態度を解析し、あわせて血中好エオジン球の変動をも観察し、丸山ワクチンの結核免疫に対する意義を前回の結果とともに論議するものである。

材料および実験方法

実験動物：体重 400 g 前後の雄モルモット 24 匹を準備し、B 群のみ 6 匹で他は 3 匹ずつ、次の各群に分類する(図 1)。

- A' 群：感染なし無処置対照。
- A 群：感染後無処置対照。
- B 群：感染なしワクチン百倍液 1.0 cc 週 1 回皮下注射したもの。
- C 群：感染後ワクチン百倍液 1.0 cc 週 1 回皮下注射したもの。
- D 群：感染後ワクチン百万倍液 1.0 cc 週 1 回皮下注射したもの。
- E 群：感染後ストマイ 5 mg 週 2 回皮下注射とワクチン百倍液 1.0 cc 週 1 回皮下注射併用した

Satosi HAIBARA (The National Kiyose Sanatorium, Kiyosemachi, Kitatama-gun, Tokyo, Japan):

A Study on the Effect of Maruyama Vaccine on Experimental Tuberculosis of Guinea Pigs.

—Kekkaku, 39 (1): 13~22, 1964.

* 現在国立療養所東京病院(院長 砂原茂一)

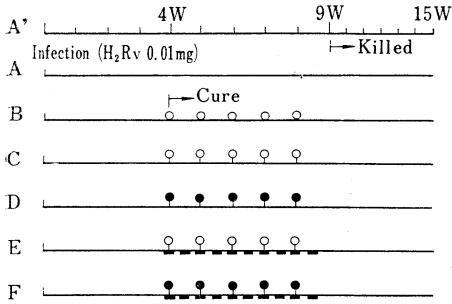
もの。

F 群：感染後ストマイ 5 mg 週 2 回皮下注射とワクチン百万倍液 1.0 cc 週 1 回皮下注射併用したもの。

感染菌：H₂Rv (予研究室橋株)

丸山ワクチン：結核菌から抽出した主として多糖体よ

Fig. 1. Method of Experiment



Group	Infection and treatment
A'	Control group without infection and treatment.
A	Control group infected with 0.01 mg H ₂ Rv subcutaneously and not treated.
B	Not infected but treated with 1.0 cc of 1:100 dilution vaccine once weekly.
C	Infected and treated with 1.0 cc of 1:100 dilution vaccine once weekly.
D	Infected and treated with 1.0 cc of 1:1,000,000 dilution vaccine once weekly.
E	Infected and treated with both 1.0 cc of 1:100 dilution vaccine once weekly and 5.0 mg SM twice weekly.
F	Infected and treated with both 1.0 cc of 1:1,000,000 dilution vaccine once weekly and 5.0 mg SM twice weekly.

Treatment was started 5 weeks after infection and was continued for 5~10 weeks.

Table 1. The Kaolin Agglutination Reaction Sensitized with Maruyama Vaccine in Serum of Guinea-pigs

Group	Agglutination										
		4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048
A	2	+	+	+	+	++	++	±	±	++	-
	3	+	+	+	+	+	±	-	-	-	-
B	2	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
	4	-	±	-	-	-	±	-	-	-	-
C	1	+	+	+	+	+	+	±	-	-	-
	2	+	+	+	+	+	+	±	-	±	±
D	1	+	+	+	++	++	+	-	±	-	-
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E	1	-	+	+	+	±	++	++	++	+	+
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
F	2	+	+	+	+	++	++	++	++	++	++
	3	-	+	+	+	±	++	++	++	++	++

Table 2. The Kaolin Agglutination Reaction Sensitized with Takahashi's Phospholipids in Serum of Guinea-pigs

Group	Agglutination										
		4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048
A	2	-	+	-	+	++	++	++	+	±	-
	3	+	-	+	++	++	++	±	-	-	-
B	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	+	±	±	±	-	+	-
C	1	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
	2	++	++	++	+	+	+	±	-	-	-
D	1	+	+	-	+	+	+	±	±	-	-
	2	+	+	+	++	++	+	±	±	-	-
E	1	-	+	+	+	+	-	+	+	±	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
	3	+	+	+	+	+	+	+	++	+	-
F	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

りなる画分^{10)11)20)~26)}。

実験動物の処理：H₂Rv 菌 0.02 mg/cc を 0.5 cc 左側腹壁皮下に接種して、4 週間放置してからワクチン、ストマイ注射を開始した。9~15 週において屠殺し、臓器については病理組織学的検索がなされ、血清については電気泳動および免疫学的検査がなされた。

好エオジン球数の変動：感染 1 週前、2 週後、および 7 週後、耳介より採血し、Bonner²⁷⁾ の方法により好エオジン球を算定した。

カオリン凝集反応：高橋ら^{28)~29)} の方法によつた。本反応は採取された血清および、その泳動画分につきそれぞれ行ない、感作抗原としては高橋らのリン脂質とともに丸山の多糖体画分をも用いた。

抗体の分析：Williams および Graber³⁰⁾ の方法により寒天ゲルを支持体とする電気泳動法を行なつた。装置は共和応用理科ゾーン電気泳動装置 Model C II N, ベロナール緩衝液 pH 8.2, イオン強度 0.05, 通電は 3.5 V/cm, 0.6 mA/cm, 20 時間、寒天ゲルは 40×3×1, 血清試料は 0.3 cc である。泳動終了後、出発線より 1.0 cm 間隔に寒天を切り、そのおのおのをさらに細切して、それぞれ 2.0 cc の生理的食塩水に浮遊し氷室に 24 時間抽出を行なう。その濾液を原液として倍数稀釈しカオリン凝集反応を行なつた。泳動帯の確認は Printing off 法³¹⁾によつた。

血清タンパク分層の変動：濾紙電気泳動法によつた。装置は共和応用理科ゾーン電気泳動装置 Model C II N, ベロナール緩衝液 pH 8.2, イオン強度 0.05, 通電は 1.5 V/cm, 0.05 mA/cm, 20 時間、濾紙は東洋濾紙 No. 51, 40×3, 血清試料は 0.1~0.05 cc, 染色はブロムフェノールブルー、泳動図は小林式濾紙光電光度計によりデントメトリーを行なつて作製した。

痕治癒傾向を示した。つまり接種局所所見ではワクチン単独、とくに高濃度加療群が良成績を示したと思われる。

局所淋巴腺腫大の推移 (図4) : ワクチン単独の C, D 2群はいずれもワクチンとストマイ併用の E, F 2群より大きく腫大し、感染のみの対照A群と同程度であった。

各群臓器の肉眼的所見 : 脾, 肺, 肝, 各臓器の病変程度を表面よりみてその結核結節数をもつて図5のヒストグラムに示すと、大体脾病変と脾重量とは平行し、ワクチン単独加療の C, D 2群は無処置対照A群の 2/3, ワクチンとストマイ併用の E, F 2群では 1/2 しか病変がみられず、肺病変においても無処置対照A群に比しワクチン単独加療では病変程度少なく、とくに高濃度ワクチン単独では 1/4 しか病変がみられなかつた。ワクチンとストマイ併用加療ではほとんど病変がみられず、併用2群の間ではわずかに低濃度ワクチン併用がまさつた。肝においても大体同様な成績を示した。もちろん感染なしワクチン単独加療の B群では各臓器病変は全くみられな

Fig. 5. The Macroscopic Tuberculous Finding of Organs and Lymphnodes Shown by Histogram

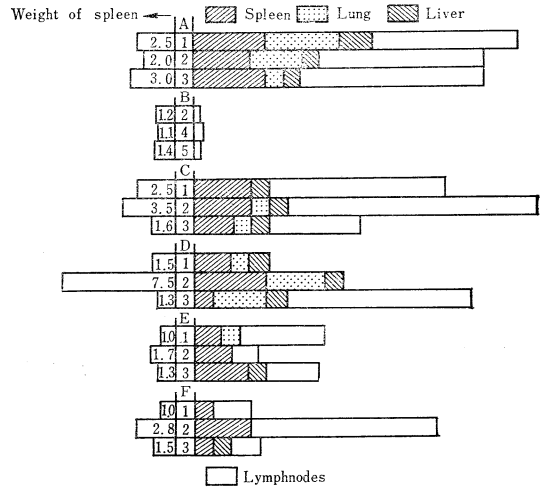


Fig. 6. Relative Increase of Eosinophilic Leucocytes during the Course of Experiment

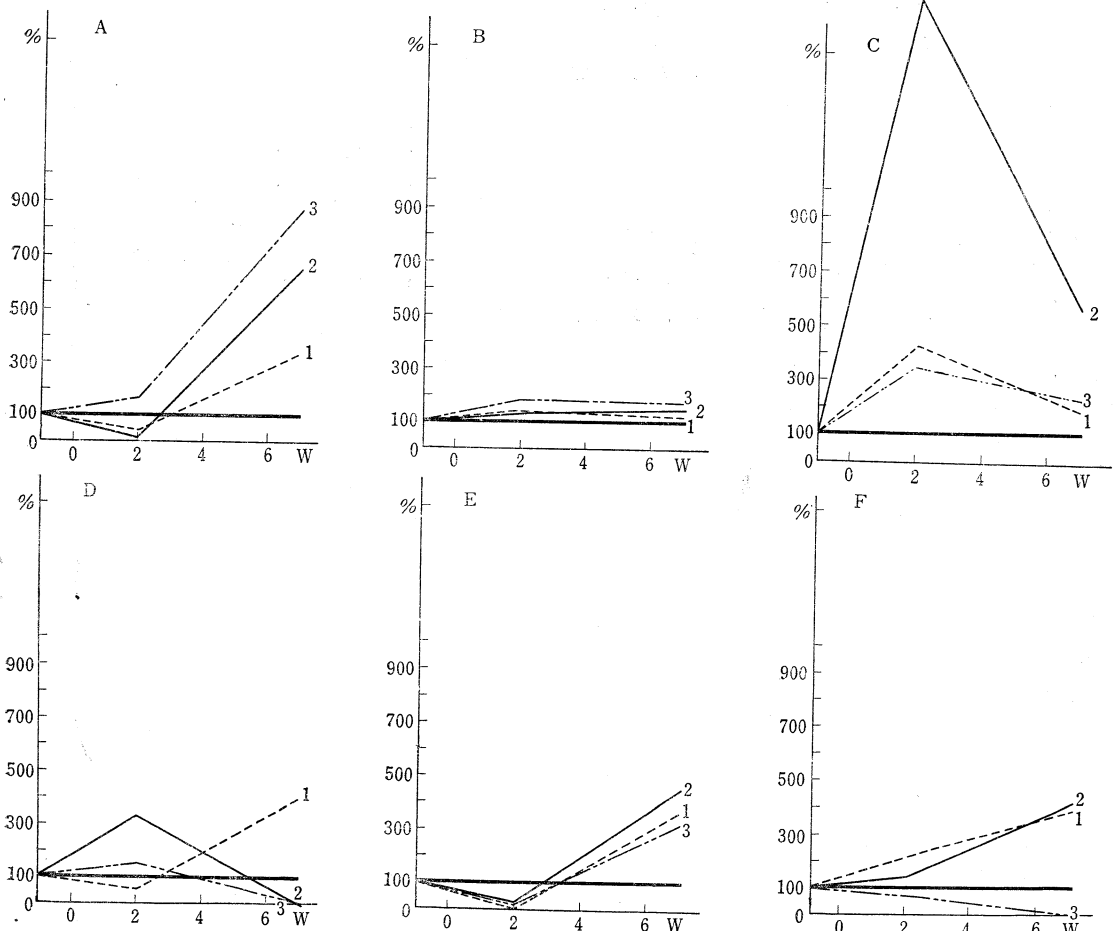
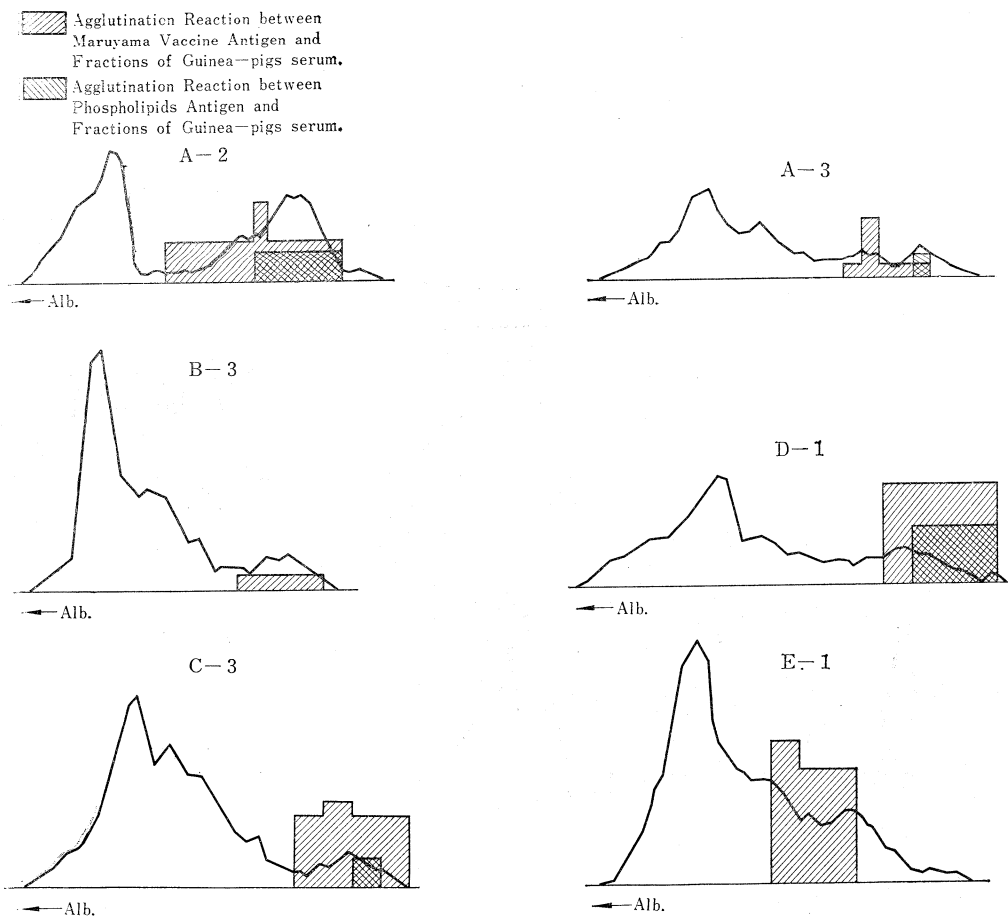


Fig. 7. Fractions of Serum Reacting with Either Maruyama Vaccine Antigen or Phospholipids Antigen



かつた。

各淋巴節腫大の変化：乾酪，非乾酪を含め小豆大を(+)，大豆大を(++)，豌豆大を(+++)としてその(+)個数を集計し数値を求めて図5のヒストグラムに示した。本成績において腸間膜，門脈淋巴節腫大は脾病変，脾重量と，また気管支，後胸骨淋巴節腫大は肺病変と平行したが，ここでは各淋巴節を総括してヒストグラムに示したので必ずしも一致せず，ワクチン単独2群では無処置対照A群と同程度大きく，とくにC-2，D-2に著明であつた。ワクチンとストマイ併用2群ではF-2を除いて同程度の大きさを示し，いずれも対照A群より小さい。また感染なしワクチン単独加療のB群では，各淋巴節の大きさは生理的な範囲を越えなかつた。

好エオジン球数の絶対値の変動：感染1週間における好エオジン球数を100として，各群の変動を図6に示した。

A群では2週から増加している。

B群ではほとんど変動はない。

C群では2週に急増し，後に減少。

D群では一定の傾向はない。

E群では7週において急増している。

F群では一定の傾向はみられない。

血清の各抗原感作カオリン凝集反応：各群の血清について，抗体の感作カオリン凝集反応を行なつた結果は表1に示されている。

抗体の分析：丸山ワクチン感作カオリン対応の血清タンパク分層の局在は， α_2 -glob. から比較的泳動速度の速い γ -glob. 部まで広く分布している。図7に示したように斜線部分がそれぞれの対応部分の存在を示し，縦軸は倍数稀釈度である。リン脂質感作カオリン対応部分は丸山ワクチンに比べて狭く分布し，主として γ -glob. である。各群については

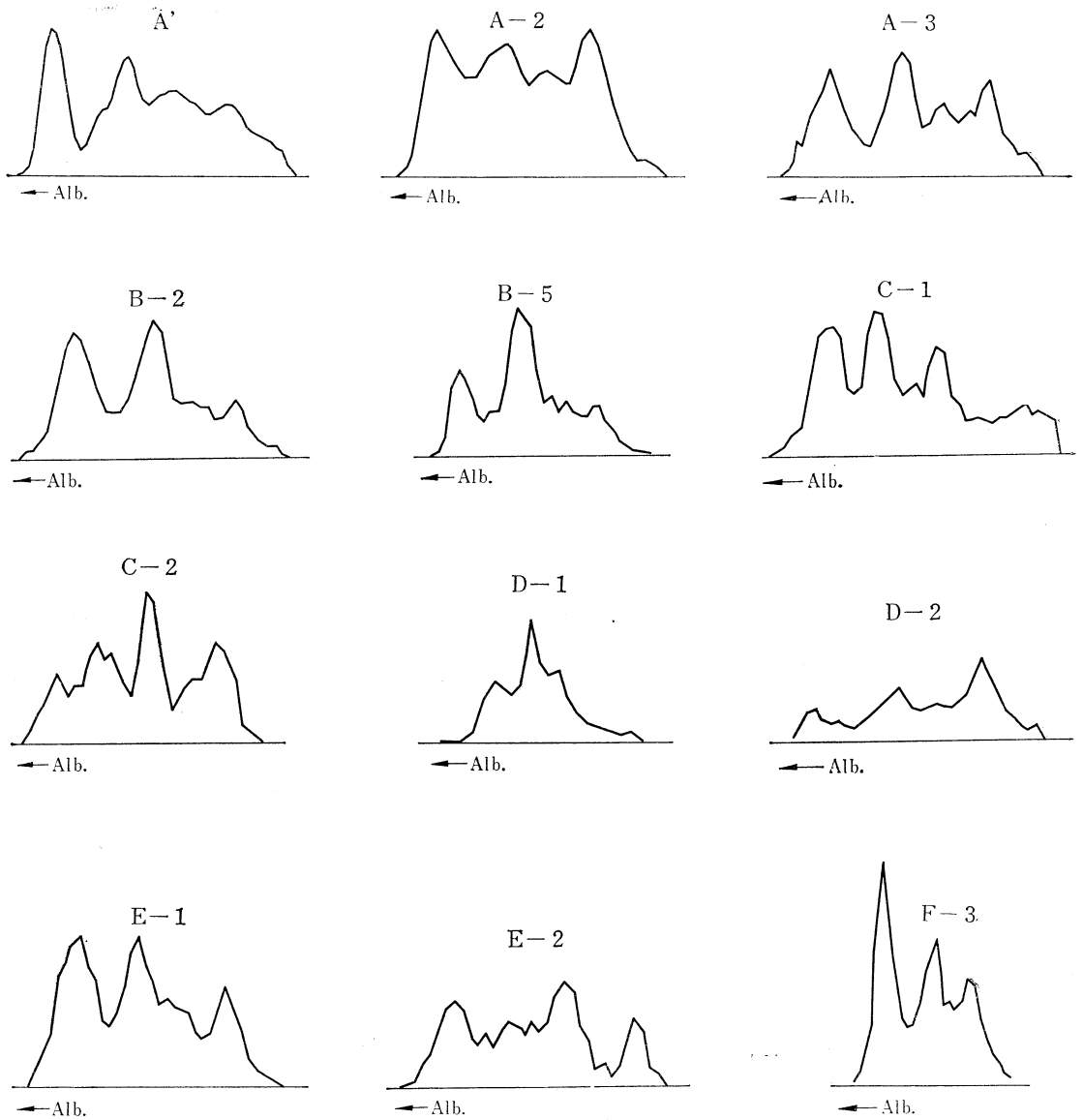
A群は両反応とも陽性。

B群は丸山ワクチン対応部分は稀釈度が低いため不明，

リン脂質対応部分はない。

C群では丸山ワクチン対応部分，リン脂質対応部分，

Fig. 8. Paper Electrophoresis of Sera of Guinea-pigs (A', A, B, C, D, E and F show the experimental groups)



ともに存在する。

D群では丸山ワクチン対応部分、リン脂質対応部分ともに存在する。

E群では丸山ワクチン対応部分は存在、リン脂質対応部分はない。

F群ではE群に同じである。

血清タンパク分層の変動：(図8)

A'群は対照である。

A群ではアルブミンの低下したもの、 α , γ の比較的上昇したもの、ないし γ の低下を示したものがある。

B群ではほとんど不変であるか、 α の著明上昇傾向が認められた。

C群ではアルブミンの低下軽度で、 α , γ は上昇か、無変化のものがある。

D群ではアルブミンの低下、 α は無変化ないしは減少したもの、 β は減少、 γ は減少かないしは無変化のものがある。

E, F両群では α , γ に大きな変動がないか、または軽度の上昇を認めた。

論 議

好エオジン球数の変動は、免疫の獲得ないしは生体内での抗原-抗体結合の成立および、過敏状況下のワクチンの意義をみるため観察された。生体における好エオ

リン球数の変動は複雑ないろいろな因子に支配され、現象を一面からのみ解釈することは不可能である。

本実験の関与するところでも感染そのものに対する一般的な生体の防禦機構を考えなければならないが、生体側の抗体の問題に関して好エオジン球数の変動を観察することには一応意味がある。すなわち Speirs および Osada³²⁾ はテタスストキソイドで免疫したマウス腹腔腔内に 5 Lf テタスストキソイドを注入し、腹腔腔内での細胞の移動特に好エオジン球の態度を観察し、好エオジン球は、抗原により破損された細胞から免疫反応においてなんらかの役割をもつ素材を未損傷細胞に運ぶ。つまり抗体産生の開始にさいして一つの役割を演じるものと考えた。

Litt³³⁾ は各種のアレルギー性疾患に一般的にみられる好エオジン球増多について、繰返し異物(抗原)にさらされる生体はその結果抗体を生じ、ここに抗原-抗体結合が出来てこれが好エオジン球増多の仲立ちをすると論議し、原則的に、Speirs および Osada らの所論と一致している。

本実験では結核感染動物の A 群では感染後 2 週で増加がみられ、非感染ワクチン単独注射の B 群ではほとんど変動がみられないことから、モルモットでは感染後 2 週ですでになんらかの抗体産生の開始が認められ、一方ワクチンそれ自身では完全抗原としての性質を欠くゆえに、非感染ワクチン単独注射のみでは好エオジン球数を変動させる因子を生体内に産生せしめ得ないものと考えられる。菌感染ワクチン単独注射群では 2 週において急増しているが、これは感染後の抗体産生とともに丸山ワクチン、すなわち多糖体性抗原と抗体との相互作用による好エオジン球の誘導などが加重されるものと考えられ、ワクチンの免疫的活性に関し塩沢ら³⁴⁾の結果と併わせ考え興味がある。なお C, D 2 群を対比してワクチンの量的関係については論及できない。感染後ワクチンとストマイ併用 2 群では 7 週において増加を認めている。これは生体内に入つた結核菌が、ストマイにより増殖を抑制され抗体産生、抗原-抗体結合形成がおくれるため対応する好エオジン球増多もおくれるものと考えられる。この場合にもワクチンの量的関係は論じられない。Seibert ら⁹⁾は BCG 免疫血清に対し結核菌体の抗原を分析し、沈降系には 0.1 ml に対し 50 r の菌タンパクが沈降し抗原の減少とともに沈降量は減り 1 r あるいはそれ以下では沈降は認められないが、菌多糖体ではしばしば 50 r では沈降が認められず多糖体の減量に従つて著明な沈降が起こり、1 r あるいはそれ以下 0.001 r までも沈降が認められ、かくして多糖体に対する最適沈降点は常にタンパクのそれよりはるかに低い濃度であるのみならず、タンパク抗原-抗体結合は抗原過剰域で再溶解しないのに反し、多糖体抗原-抗体結合は抗原過剰域で再溶解する

といっている。

また補体結合反応は菌タンパク、および PPD-S にはみられるが菌多糖体抗原にはみられない。このように各抗原には独立性がある一方、菌多糖体を注射した免疫ウサギでは多糖体対応抗体は消失し補体結合値も大いに減少する。しかし、なお十分な菌タンパク対応抗体は残っている。そして興味あることはこのような動物は毒性菌に対する抵抗をも失う。本抗体は γ -glob. に局在するといっている。Cole および Favour⁶⁾ は結核菌感染モルモット血清を Middlebrook-Dubos 法および Boyden 法を指標として分析し、菌多糖体対応抗体は Cohn ら⁷⁾の画分 II (γ -glob.) のみにあり、Middlebrook-Dubos 価の全部をもち、菌タンパク対応抗体は画分 IV-10 (主として α -glob.) にあり Boyden 価の全部を含むという。

また高橋ら³⁵⁾はそのカオリン凝集反応において感作抗原をリン脂質性、多糖体性および、タンパク質性と免疫的にそれぞれ独立して分離するとともに、リン脂質感作カオリン凝集反応がヒト結核症の進展度に併行することを発表した。

感染モルモット血清において丸山ワクチンを抗原とする沈降反応は成功しなかつたが、高橋ら³⁵⁾の方法に従い丸山ワクチンを感作抗原とするカオリン凝集反応は成功した。これをリン脂質感作カオリン凝集反応と対比すると表 1 に示すように両反応はほぼ独立の反応であることが分かつた。

また電気泳動的に局在をみると、各抗原はカオリン凝集反応において互いに独立したものであり、丸山ワクチン対応抗体は α -glob. から γ -glob. の比較的泳動速度の速い部分にわたつて広く分布し、リン脂質対応抗体は比較的狭く γ -glob. に局在することが分かつた。このことから、免疫血清中の制菌因子の局在につき各研究者の結果はまだ完全に一致してはいないが、丸山ワクチン対応抗体中の制菌因子は、glob. 部の広い範囲のいずれかに認められることは想像される。Kochan および Raffel によれば、免疫モルモット血清中の α -glob. の制菌因子は厳密には結核菌に特有ではなく他の数種の球菌および桿菌に対しても効果があるが、一方丸山ワクチン単独注射マウスでは Properdin 値は認められなかつた³⁶⁾という報告がある。これは本研究および、塩沢ら³⁴⁾が暗示するようにワクチン単独注射では完全な抗原性をもたず、菌感染ないしは全菌免疫によりはじめて対応抗体の上昇がおこるものと考えられ、またそれはすでに報告した¹⁹⁾ように感染動物のストマイと丸山ワクチン併用加療群では、高濃度ワクチン群においてむしろその治療効果の劣る傾向がみられたことも、Seibert らが仮説するように菌多糖体の過剰の注入は生体内の多糖体対応抗体を消失せしめ、各抗原対応抗体間の平衡を崩しむしろ悪い結果となるということを肯定せしめるものであろう。

結核症において、Zinsser ら³⁷⁾がいわゆる体液免疫の問題に関する研究から得た見解は今日においても大体変わっていない。すなわち結核菌あるいはその産物と反応すべき抗体は、動物の結核感染に対する抵抗を増すことはできないといっている。これは後になつて Raffel によつても確認された。それにもかかわらず Seibert ら⁹⁾の研究など結核症の体液性抵抗を暗示するものも多く、本症における免疫効果および治療効果を完全に捨て去るわけにはいかない。Kochan および Raffel⁵⁾、辻ら³⁸⁾、Mirvik および Weiser ら³⁹⁾、Lurie⁴⁾、あるいは Meisner ら⁴⁰⁾は免疫動物の血清に制菌効果のあることを示している。

また丸山およびその協同研究者^{10)~23)}は、結核菌から分離した多糖体画分、いわゆる丸山ワクチンによるヒトの結核症ことに皮膚結核症に対する治療効果について諸誌に報告している。

Kochan および Raffel は結核感染ならびに、BCG 免疫モルモット血清中に結核菌成育阻止因子があり、電気泳動的にはその因子は α -glob. に局在していることを示した。しかしそのような活性を誘導する抗原の特性については将来に残された問題であつた。Crowle⁴¹⁾は抗結核性抗原はおそらく多糖体性のものであり、それに担体成分として Anderson の Wax B⁴²⁾、または Choucron の PmKo⁸⁾ のごとき脂質が結合するものであろうといっている。

また Seibert らは結核症とその予後について血清中の糖タンパク量— α -glob. に属する一との関係につき示唆を与えている。

本実験において濾紙電気泳動法を用いて各群の血清タンパク像を観察した結果では、感染なし無処置飼育の A' 群血清を対照として比較すると、感染のみの A 群ではアルブミンの低下、 α -glob. の上昇、 γ -glob. の上昇か、またはやや低下し病変の急性的進行を示している。感染なしワクチン単独加療の B 群では著明な変化がないか、 α -glob. の上昇をみるものがあり、ワクチン単独では血清タンパクを変動させるような活性はないか、あるいは α -glob. を上昇させるかもしれないと考えられる。感染動物—ワクチン単独加療の 2 群では、C 群でアルブミンの低下が D 群より軽度でありワクチンがアルブミンの低下を防止する。つまり急性炎症の進展を抑制しようとする傾向があると考えられる。感染動物—ワクチンとストマイ併用の E, F 群では α および γ -glob. に著明な変化がないことは、ストマイによる制菌効果が強いため生体に対する影響が少ないものと考えられる。すなわち、丸山ワクチンはアルブミン低下の防止、 α 、 γ -glob. の上昇の活性をもつものと考えられるが、それをただちに α -glob. の局在的制結核菌因子と結びつけて考えるのはなお今後の研究を必要とする。

結 論

H₂Rv 感染モルモットにおけるいわゆる丸山ワクチンの効果に関する研究を行なつた。実験結核症における動物血清の分析に主点をおき次のような結論を得た。

1) 好エオジン球の感染過程中的変動にさいし丸山ワクチンはなんらかの活性をもつものごとくで、それを抗原—抗体結合の関係において論議した。2) カオリン凝集反応の手技を用い、丸山ワクチン感作カオリン凝集反応がおこることを認め、それはリン脂質感作とは独立していることを想定した。3) 血清の免疫学的分析を行ない各対応抗体の分布を観察し、丸山ワクチン対応抗体は α -glob. より比較的泳動速度の速い γ -glob. にわたり存在し、リン脂質対応抗体は γ -glob. に局在することを認めた。4) いわゆる多糖体性抗原の生物学的活性につき論議した。

本論文の要旨は昭和 36 年第 36 回ならびに昭和 37 年第 37 回日本結核病学会総会において発表した。

稿を終るに臨み種々ご懇篤なご指導とご校閲を賜つた結核予防会結核研究所岩崎竜郎所長ならびに日本医科大学丸山千里教授に心から感謝致します。なおカオリンを分与下さつた北海道大学高橋義夫教授、また研究の機会を与えられた島村喜久治院長、細部にわたりご教示、ご便宜を計つていただいた牧野進医師課長、斉藤義治博士、長倉勇四郎博士、常石三郎博士に深謝致します。

また本研究は昭和 36 年および昭和 37 年の厚生省特殊研究費の援助に負うところが大きく記して謝意を表します。

文 献

- 1) Raffel, S.: Bull. Internat. Union, 30 : 52, 1960.
- 2) Lurie, M. B.: J. Exper. Med., 75 : 247, 1942.
- 3) Abe, S., Motomiya, M.: Jap. J. Tuberc., 6 : 75, 1958.
- 4) Lurie, M. B.: J. Exper. Med., 69 : 579, 1939.
- 5) Kochan, I., Raffel, S.: J. Immun., 84 : 374, 1960.
- 6) Cole, L. R., Favour, C. B.: J. Exper. Med., 101 : 391, 1955.
- 7) Cohn, E. J., Gurd, F. R. N., Surgenor, D. M., Barnes, B. A., Brown, R. K., Derouaux, G., Gillespie, J. M., Kahnt, F. W., Lever, W. F., Liu, C. H., Mittlelman, D., Moulton, R. F., Schmid, K., and Uroma, E.: J. Am. Chem. Soc., 72 : 465, 1950.
- 8) Choucron, N.: Am. Rev. Tuberc., 56 : 203, 1947.

- 9) Seibert, F.B., Miller, E.E., Buseman, u., Seibert, M.V., Soto-Figueroa, E., and Fry, L.: *Am. Rev. Tuberc.*, 73 : 547, 1956.
- 10) 丸山・野村・藤沢・飯田・原田・宇田・武田・宗像近喰・横田：日医新報, 1428 : 12, 昭26.
- 11) 丸山・松原・牛山・飯田・原田・宗像・近喰・新海岸・松下・平井・長堀・浦辺・福本・永井・文入・増田・本田：日医新報, 1795 : 14, 昭33.
- 12) 平井敏之・浦辺清道・福本寅雄：皮膚科の臨床, 2 : 124, 昭35.
- 13) 丸山千里・原田誠一：皮膚科の臨床, 2 : 416, 昭35.
- 14) 塩田広重：第18回国際外科学会会議報告, ミュンヘン, 昭35.
- 15) 渡辺芳子：日医大誌, 28 : 524, 昭36.
- 16) 松浦鉄造：日医大誌, 28 : 687, 昭36.
- 17) 若林三圭・中野真一・井幕真哉：結核, 36 : 612, 昭36.
- 18) 丸山千里：胸疾, 6 : 1, 昭37.
- 19) 埴原哲・長倉勇四郎・常石三郎・淵沢健之助：結核, 36 : 612, 昭36.
- 20) 飯田康衛：結核, 26 : 285, 昭26.
- 21) 新海恒：日医大誌, 23 : 615, 昭31.
- 22) 松下正幸：日医大誌, 24 : 122, 昭32.
- 23) 飯田康衛・水野綾子：日医大誌, 27 : 178, 昭35.
- 24) 浦辺清道：日医大誌, 27 : 1493, 昭35.
- 25) 文入正敏：日医大誌, 27 : 1506, 昭35.
- 26) 福本寅雄：日医大誌, 27 : 1617, 昭35.
- 27) Bonner, C.D.: *J. Am. Med. Assoc.*, 148 : 634, 1952.
- 28) 安達恵：結核の研究, 14 : 45, 昭36.
- 29) 深江肇：結核の研究, 13 : 27, 昭35.
- 30) Williams, C.A., Graber, P.: *J. Immun.*, 74 : 158, 1955.
- 31) Poulik, M.D.: *J. Immun.*, 82 : 502, 1958.
- 32) Speirs, R.S., Osada, Y.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 109 : 929, 1962.
- 33) Litt, M.: *J. Immun.*, 87 : 522, 1961.
- 34) 塩沢富美子：結核ワクチン治療研究会報告. 東京, 昭36.
- 35) 高橋義夫：日細, 15 : 935, 1960.
- 36) 河盛勇造・志摩・富安：結核ワクチン治療研究会報告, 東京, 昭36.
- 37) Zinsser, H., Enders, J.F., Fothergill, L.D.: *Princ. Appl. Med. Pub. Health*, The Macmillan Comp, New York, 1939.
- 38) Tuji, S., Oshima, S., Takeoka, A.: *Am. Rev. Tuberc.* 77 : 524, 1958.
- 39) Myrvik, Q., Weiser, R.S.: *Am. Rev. Tuberc.*, 64 : 669, 1951.
- 40) Meissner, G.: *Zentralbl. Bakt.*, 106 : 210, 1928.
- 41) Crowle, A.J.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 109 : 969, 1962.
- 42) Asselineau, J.: *Adv. Tuberc. Res.*, 5 : 1, 1952.

A Study on the Effect of Maruyama Vaccine on Experimental Tuberculosis of Guinea Pigs.

Maruyama vaccine is prepared from tubercle bacilli of human type, and is consisted mainly of polysaccharide fraction of tubercle bacilli. In the present paper, the author made a study on the effect of Maruyama vaccine on experimental tuberculosis of guinea pigs with special reference to autopsy findings and immunochemical properties.

Pure strain of male guinea pigs, 24 in number, were used for the study, and they were divided into 7 groups as shown in Fig. 1. Macroscopical examinations were conducted on Organe and Lymphnodes taken from autopsied guinea pigs. The number of eosinophilic leucocytes was counted at 1 week before infection, 2 and 7 weeks after infection by the Bonner's method. The immunochemical observation of animal serum and its electrophoretical fractions were

made by Takahashi-Adachi's kaolin agglutination reaction sensitized with Takahashi's phospholipids and Maruyama vaccine. Analysis of antibody was done by Williams-Graber's method and Poulik's method. Changes of serum protein fractions were observed by paper electrophoresis. The results were the following :

- 1) No animal died during the experiment.
- 2) As shown in Fig. 2, the increase of body weight was most marked in group C treated with high concentration Maruyama vaccine alone.
- 3) Lesions in infected site was most obvious in group A as shown in Fig. 3. Local lesions were, in general, slight in group C.
- 4) Changes in regional lymphnodes were slighter in groups E and F treated with SM than in the other groups. (Fig. 4)
- 5) As shown in Fig. 5, macroscopical changes in

spleen, lung and liver were most marked in group A, less in groups C and D, and least in groups E and F.

6) Increase in the number of eosinophilic leucocytes was most marked in group C at 2 weeks after infection, which suggests the influence of high concentration Maruyama vaccine. (Fig. 6)

7) As seen in Fig. 7, antibody corresponds to Maruyama vaccine was widely distributed from α -globulin to γ -globulin, while antibody corresponds to phospholipids was distributed mainly in γ -globulin.

8) By paper electrophoretic analysis, slight increase of α -globulin was observed in group B, albumin was not reduced and α and γ -globulin were increased in group C, nearly the same pattern seen in group A was found in group D, and α and γ -globulin remained unchanged in groups E and F.

By the use of Maruyama vaccine, antibody corresponds to polysaccharide fraction of the vaccine showed increase, and by electrophoretical analysis, the relative increase of α and γ -globulin was observed in animals infected with H_2R_V and treated by

the vaccine alone. The increase was, however, not so marked in animals treated by the low concentration vaccine, especially together with SM. The facts suggest that the effect of Maruyama vaccine shows certain correlation with the increase of α -globulin in serum, and the effect is diminished when animals were treated effectively by antituberculous drugs. The poor effect of Maruyama vaccine in animals treated together with SM may be explained by the assumption that the excess of tuberculopolysaccharide, as was noted by Raffel et al. or Seibert et al., causes the unbalance between tuberculopolysaccharide corresponding antibody and tuberculoprotein corresponding antibody due to the consumption of α -globulin fraction corresponding to tuberculo-polysaccharide.

In conclusion, Maruyama vaccine prevents the reduction of albumin and increases α and γ -globulin, thus increases resistance to tuberculous inflammation, but in order to confirm the correlation between Maruyama vaccine and specific tuberculostatic factor located in α -globulin, further studies are necessary.