

第44回総会特別講演

II. 結核菌体成分による組織反応

京都大学結核胸部疾患研究所 安 平 公 夫

The 44th Annual Meeting Special Speech

II. MESENCHYMAL REACTIONS TO CHEMICAL COMPONENTS
OF TUBERCLE BACILLI*

Kimio YASUHIRA

In consideration of the mechanism of formation of epithelioid granuloma, which is histologically characteristic of tuberculous lesions and some other diseases, a new category of allergic reactions, a superdelayed type of allergy, was proposed by this author at the Autumnal General Meeting of the Japanese Pathological Society in 1960 (Acta Path. Jap. 10: 419). At that time it was reported that in only tuberculo-sensitized animals (rabbits and guinea pigs) an Arthus type of necrotizing lesion was induced by tuberculopolysaccharide fractions and a tuberculin type of monocytic granulation by tuberculo-protein fractions from tubercle bacilli some days after the pulmonary instillation of these fractions. In contrast to these early reactions, epithelioid granulomas were produced in the treated lungs of sensitized animals some weeks after the administration of bacterial lipoids; for example, Choucroun's sensitizing material, Yamamura's lipoprotein, Anderson's phosphatide A3, and Lederer's wax D. Therefore, the granuloma-producing reactions to these antigens were named "superdelayed type" because of the markedly delayed appearance of tissue reactions. In control animals, these lipoids also induced epithelioid granulomas two to three weeks later than in sensitized animals. This shows the ability of these fractions to sensitize treated animals with an interval of a couple of weeks. In any case, it was pointed out that epithelioid granuloma is induced by superdelayed allergic reaction to some lipoidal components of tubercle bacilli or related bacteria in sensitized animals.

Two years ago, it was planned again to extract and purify lipoidal components of tubercle bacilli. Two Kgs of the bacilli (heat-killed H₃₇Rv) were used as the starting material for the extraction. The fractions obtained were analyzed for information as to their chemical composition, and their biological activities were tested in tuberculo-sensitized or nonsensitized animals. These experiments showed wax D to be the only substance among the lipoids capable of inducing epithelioid granuloma, which appeared after only one week and reached a maximum reaction two to three weeks after the injection of the fraction into sensitized animals. The activity of the other lipoids, which seemed to be due to the contaminating wax D, diminished after further purification. Phthioic acid fractions obtained from acetone-soluble fat or phosphatide of the bacilli by column chromatography were also inactive in producing granuloma, and it was assumed from the results of gas-chromatographic analysis that the fractions consisted of trimethyl-tetracosanoic and trimethyl-docosanoic acids with small amounts of palmitic, stearic, and some other acids as contaminants. Fatty acids of carbon number 6 to 26 obtained commer-

* From the Department of Pathology of the Chest Disease Research Institute of the Kyoto University, 53 Shogoin-kawahara-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606 Japan.

cially, although many are contained in the lipoids from tubercle bacilli, were also examined for their biological activities. Stearic, behenic and some other acids were able to induce small tuberculoid but not typical epithelioid foci at the site of injection. The foci were comparable to those induced by phthioic acid fractions; therefore, it was concluded that the activity inducing epithelioid granuloma is characteristic of wax D and not of phosphatide or phthioic acid fractions of tubercle bacilli.

Subfractions of purified wax D were also tested. After centrifugal fractionation of wax D in ether by the method of Jollés (1960), the specific granuloma-inducing activity appeared in the larger molecular portions of wax D, and nonspecific granuloma was induced by the smaller ones in sensitized animals. Acetylation of wax D by the method of Tanaka (1963) reduced the activities and also adjuvanticity. It was interesting that the AD6 subfraction of acetylated wax D, which has an amino acid moiety in its composition and is known to be potent in the adjuvant activity, irritated the tissues to form only a nonspecific and not an epithelioid granuloma. When given separately, two components of saponified wax D, water-soluble and lipid fractions, revealed no activity in producing specific granuloma, but they recovered this activity when these two components were mixed. Subfractions of the water-soluble portion of wax D offered by Dr. Tanaka and his assistants (Koga, T. et al., 1968) were also tested.

In order to clarify dissociation between delayed and superdelayed hypersensitivities in sensitized animals, the following experiments were carried out. First, epithelioid granuloma could be induced in animals desensitized by daily subcutaneous injections of old tuberculin until they had become tolerant to tuberculin. Second, similar but weaker phenomena were seen in animals previously treated with bacterial antigens *in utero* or at birth. Third, some immunodepressors suppressed the formation of epithelioid granuloma and finally, antithymic and to a lesser degree antilymphocytic sera inhibited the appearance of epithelioid foci after a challenge injection with wax D in sensitized animals. The results of the last two experiments also indicate that the specific granuloma can be formed under allergic conditions connected with functions of lymphocytes.

In conclusion, a model of the mechanism of epithelioid granuloma formation was presented. Wax D has three different abilities; 1) enhancing proliferation of lymphocytes by wax D complex itself, necessary for the induction of the superdelayed type of allergic reaction, 2) stimulating formation of nonspecific granuloma by its polysaccharide portion, and 3) transforming granuloma cells from histiocytic to epithelioid by its fatty acid branches. Simultaneous co-operation of these moieties of wax D are essential and indispensable for the formation of epithelioid granuloma.

1960年の日本病理学会秋期総会で、演者によつて類上皮細胞形成に対する超遅延型アレルギー反応が提唱された。すなわち菌体画分のうち tuberculopolysaccharide では Arthus 型の好中球壊死、更に空洞形成に至る反応が、また tuberculoprotein では単球肉芽形成を示すいわゆるツベルクリン型の遅延反応が、いずれも結核感作動物に惹起される。これに対して菌体リポイドのあるものでは、感作動物に見事な類上皮細胞巣を形成するが、注射数週後にその病巣形成の山がある。前2者に比べてその反応が非常に遅延し、かつアレルギー性に起こるといふ意味で、これに超遅延型の名が与えられた。リポイ

ドによる病巣形成は、後には非感作動物でも起こつてくるが、これは使用したリポイドに動物感作能があり、かつ長期にわたつて抗原が注入局所に滞留しているためである。

今回新たに H₇₇Rv 死菌体 2kg を主材料とし、菌体画分を得てこれを精製、その構成成分の分析を試みると共に生物活性を検討した。その結果を要約すると次のようである。類上皮細胞巣を作るものは、菌体リポイドのうち wax D(WD) である。従来病巣形成作用のあるものとして数えられていた磷脂質は、精製を進めるに従い、その活性を減じ、また抽出されたフチオン酸画分も、認

むべき活性を有しなかつた（磷脂質の示した活性のうち、類上皮細胞巢形成はWDの、また肉芽形成力は多糖体分の混入によるものと考えられる）。逆にWDは、精製を進めると共にその活性が強くなり、感作動物では注入1週後、すでに類上皮細胞巢が形成され、非感作動物でも3週後には反応陽性となる。

WDの低画分の活性が検討された。Jollésによるエーテル溶液中での超遠心による分画では、分子が小さくなるに従い類上皮細胞形成能の減少がみられ、150分遠心上清画分には最早活性をみなかつた。田中のアセチル化法による低画分は、いずれも類上皮細胞形成能に乏しく、ことにAD₂画分には全く活性がみられなかつた。AD₁には肉芽形成能が残っているが、同時にアジュバント作用もこの画分に認められる点興味がある。WDを鹼化し、リピッドと水溶部とに分けると、類上皮細胞形成能もアジュバント作用も共に失われるが、両者を合わすと再び類上皮細胞形成能が現われる。水溶性低画分Dps-II, IIIは血球凝集、ツ反惹起等の抗原性がなく、PCA惹起能のみ残しているが、これらの画分にはまた肉芽形成能も残っている。すなわち肉芽形成アレルギーは、その抗原性においてPCA惹起の低分子多糖体と関係するものと理解される。

WDによる類上皮細胞巢形成超遅延型反応とツ反型遅延反応との関係を見ると、OTまたは死菌体による脱感作操作で、両者の解離が明らかとなる。また胎生期、あるいは生下時という、免疫未熟状態での感作操作による免疫寛容という手段でも、両者の解離が認められた。すなわちツ反陰性動物にもWDによる類上皮細胞巢形成がみられ、またその逆も成立する。類上皮細胞巢の形成は免疫抑制剤の使用で相当著明に抑制され、また抗リンパ球血清、抗胸腺血清の投与でも抑制される。

WDは著明なリンパ球増殖作用を有している。これは遅延型および超遅延型のアレルギーを促進する条件となるものである。WDの多糖体部は肉芽形成アレルギーを惹起し、その脂肪酸部は肉芽細胞を類上皮細胞へと変貌させる。これらの作用を兼ね備えるところに、WDの類上皮細胞形成能の秘密がある。

1. 本研究にいたる契機

結核病巣は、疑いもなく結核菌体成分に対する組織の反応として形成されるものゆえ、その形成機序の解明は、まず分析的に、各菌体成分のおのおのに対する組織反応を明らかにし、その成果のうえに立つて総合的に、その成立を論ずるのが順序であろう。この意味で、本講演に最も深い関連を持つ過去の業績として、次の3者をあげておきたい。

a) Sabinら(1930)¹⁾の化学説：多岐にわたるSabin

らの研究の中心は、結核性組織の特徴である類上皮細胞形成に関与する菌体成分として、菌体磷脂質画分、中でもそれに含有されているフチオン酸をあげたことである。この研究はAnderson一派の広範な結核菌体の化学に関する業績に支えられて、その後長期にわたる説得力を発揮することとなつた。しかしSabinらの報告をみると、結核結節は独り磷脂質画分によつて作られるだけでなく、菌体より得た軟蠟や精製蠟でもほぼ同様に結節が形成され、アセトン可溶性脂肪画分でも結節が作られる。加えて彼らの使用した1動物当りの菌体画分は極めて多量であり、時に数100mgに及んでいる。もし使用画分に挟雑物ありとすれば、我々の経験では、それは見逃しええないほどの量に上る可能性がある。また形成された結核病変は、使用薬剤量に比べると極めて貧であるというほかはなく、病巣形成にも相当の長時日を要している。フチオン酸画分を使用しての実験も、単に細胞の類上皮細胞化を、超生体染色法によつて同定したに留つており、この際類上皮細胞巢が見事に作られたか否かは確かでない。なおSabinらのこの業績に関するVoissovain and Ryder(1931)²⁾の批判は峻烈で、彼らによるとSabinの得た成績は、画分に混在する菌体fragmentによるものであるという。

b) 山村氏ら(1954, 55)³⁾の実験空洞：山村氏らが、結核性の肺空洞が、結核菌体に対するアレルギーとして形成されること、更にこれに関与する菌体成分としてリボ蛋白をあげたことは、すでに我々の周知するところである。肺空洞はしばしば菌の播種源となり、医学的に極めて重要な意味を有している。この意味で、人の肺空洞と極めて類似点の多い空洞を実験的に作成することに成功した山村氏のこの業績は、抗原の肺内注入というその特徴的な手技と共に、結核病巣が感作動物において発生するというアレルギー説を一般に徹底させたという点で、一時期を画した業績であると考えられる。この報告が現われて以来、筆者も結核病巣形成機序の解明実験に、肺注入法を愛用してきた一人であるが、我々の実験結果によれば、山村氏の言うリボ蛋白必ずしも、肺空洞形成の主役をなすものとは考えがたいという成績が得られている。加えて筆者の基本的見解よりすれば、結核病巣の特徴的病変はあくまで類上皮細胞結節形成であり、空洞形成は、いかにそれが臨床的に重要でも、病理学的見地からすると、多くの場合それは結核病変の二次的変化にすぎないという事実がある。

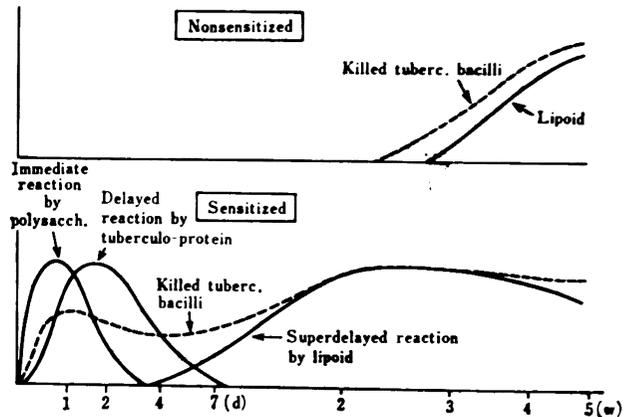
c) 筆者(1960)⁴⁾の類上皮細胞巢形成論：筆者は1960年の日本病理学会秋期特別総会の席上で、類上皮細胞巢形成に関する超遅延型アレルギー説を展開した。実験方法は主として山村氏らの肺注入法に準拠したもので、あらかじめ Freund の complete adjuvant の皮下注射で感作し、ツベルクリン反応(ツ反)陽性となつた

Table 1. Tissue Reactions to Chemical Components of Tubercle Bacilli in Rabbits and Guinea Pigs (Yasuhira, 1960)

Materials	Tuberculo-sensitized					Nonsensitized					Neutrocytic, necrotic	Nonspecific, granulomatous	Epithelioid, granulomatous
	3(d)	1	2	3	4(w)	3(d)	1	2	3	4(w)			
Heat-killed tuberc. bacilli	++	++	++	+++	+++	-	-	+	+	++	++	++	+
Choucroun's crude extract	+	++	++	+++	+++	-	-	+	++	+++	++	++	++
Yamamura's lipoprotein	(+++)	(++)	++	++	+	-	-	+	++	++	++	++	+
Tuberculo-polysaccharide	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	++	+	(-)
Tuberculo-protein (TA 4)	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	++	(-)
Phosphatide A3	+	++	++	+	-	-	-	-	+	(++)	-	-	++
Choucroun's R (Sensitizing material)	+	++	++	++	+	-	-	-	+	++	(+)	+	++
Choucroun's PMK ₀ (Toxic substance)	-	++	++	+++	+++	-	-	-	-	+	+	-	++
Wax D	-	+	++	+++	+++	-	-	-	+	++	(-)	(-)	++
Wax A	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	(-)
Wax B	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Wax C	(+)	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	(Hemorrhage)	-	(-)
Acetone-soluble fat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DNA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

動物の肺内に、各種の菌体成分の一定量（兎では 0.5mg、モルモットでは 0.2mg）を、流バラ・ラノリン混液に混入して気管支経路で注入する。すると Anderson 法 (1927)⁶⁾ による磷脂質画分、Lederer 法 (Asselineau, 1953)⁶⁾ による蠟D、Choucroun 法 (1947)⁷⁾ による流バラ抽出各画分によって、注射局所に壊死を伴わない見事な類上皮細胞巣が発生する。この病巣は感作動物では早くは注入1週間後、遅くとも2~3週以後に現われるが、非感作対照動物では3週以後、多くは4~5週後において現われる。感作、非感作両動物にみられるこの時間差は、注入画分が動物感作能を有することを示しており、また感作動物に現われる病巣形成の山の頂きは、この反応が超遅延型として出現することを示している。同様にしてツベルクリン多糖体画分を反応元として使用すると、注入早期より好中球壊死反応が出現し、続いて壊死部を分界する分界肉芽が1週後に現われる。この壊死反応は、後に空洞形成をもたらすことがある。ツベルクリン蛋白を使用する場合には、注入数日後に単球肉芽が形成され、1週以後に消退する。これら両反応は Arthus 型、ツベルクリン型として知られている即時、遅延の両アレルギー反応に相当し、感作動物にのみ現われて、非感作動物には現われない(表1, 図1)。以上菌体リポイド含有各画分による類上皮細胞巣の形成は、ツベルクリン型遅延反応とは区別される別の遅延型アレルギー反応を表わすものであり、その反応出現の超遅延性のゆえに、一括してこれを超遅延型アレル

Fig. 1. Three Types of Allergic Reaction Caused by Tubercle Bacilli or Their Components



ギーと呼ぶことを提唱した。なお死菌体を感作動物に注入すると、早期の滲出炎と後期の類上皮細胞巣形成の2つの反応が現われるが、これは菌体に含有される各成分によって、即時型およびツベルクリン型の反応と、超遅延型の反応とが前後して現われるために起こるものと理解される。

2. 本実験にかかわる2つの難点

上述の実験に限らず、菌体画分によって結核病巣形成を探ろうとしてきた数多くの実験のいずれもが、次の2つの重大な難点を含んできた。その1つは使用する菌体画分の純度その他化学的見地よりする問題であり、他は結核特異病巣認定にいたる形態学上の疑議である。前者

に関しては、本講演の時点においてもなお多くの問題を残している。しかし演者は旧くは東大伝研武田徳晴教授研究室、名市大医学部明石修三教授研究室、中期には阪大医学部山村雄一教授研究室およびその関係諸施設、北野病院長尾四郎博士研究室、Stanford 大の Dr. S. Raffel の研究室等よりの好意ある資料提供を受け、ごく最近では九大胸研の杉山浩太郎教授研究室田中氏らとの協力がなされている。もちろん演者の研究室でも数次にわたって菌体成分の抽出分離が行なわれ、画分精製の努力を重ねてきた。第2の点に関しては、類上皮細胞同定のために、ここ数年来電顕手技を導入した。電顕のレベルで類上皮細胞を検すると、Sabin のみた微細な neutral red 顆粒に相当する electro-dense な microbody が多数胞体に存在し、Golgi 装置は発達し、同時に微小な小胞体が、多数に ribosome を有する小胞体とは別に増加する。細胞膜には強い interdigitation があつて相互に連結し、しばしばこれが切断されて、胞体内で小胞体様構造を持つ顆粒となる。核は一般に chromatin 凝集の少ない、平板な明るい核質をもち、大きな核仁1コを有している。このような典型的な類上皮細胞は、蠟D注入2~3週後に感作動物に出現する。一見類上皮的性格を思わせる肉芽形成が TAP や燐脂質画分の注入で現われる。しかし電顕で検すると、これは類上皮細胞とは全く異なつた諸形態を示す細胞の集団より成ることが判明する。すなわち microbody ははるかに粗大で時に空胞を伴つて出現し(泡沫細胞性格)、Golgi や小胞体も少なく、細胞膜の interdigitation も現われない。核質は核膜に沿つて凝集し、また粗大な chromatin が現われる。もちろん膨大な検索資料のごく一部が電顕によつて検索されたにすぎないが、この方法によつて得られた知識に基づいて資料を光顕で検すると、形成された肉芽を類上皮細胞性と単球非特異ないしはリポイド肉芽に区別することが容易となり、従来得られていた成績に再評価を加える必要も生じてきた。以上の次第で、この方面での実験成績の読みとりに、1つの進展をきしたものと解している。この事は、筆者の実験では常に被検物が流パラ・テノリンを媒体として試供されてきたという点で、特に留意を要することであつた。

3. 菌体画分の精製

主としてソートン培地6週間培養の $H_{97}R_v$ の加熱死菌を使用し、一部同様にして得た BCG 生菌を使用した。いずれも食塩水、更に蒸留水にてよく洗つたもの、あるいは更にこれを凍結乾燥して保存したものであるが、湿菌のときは約 2kg、乾燥菌では約 500g が出発材料として使用された。菌体成分の抽出は、基本的には Anderson, Lederer らの分画法を踏襲したものであるが、出発材料および抽出精製の段階で、多少の改変が加

えられた。その改善の主な部分は、1) 菌体よりの抽出はすべて magnetic stirrer 上で常時攪拌しながら、比較的短時間、繰り返して行なわれたこと(たとえば24時間抽出5回)、2) エーテル・アルコール抽出物は、常に Berkefeld 濾過器 No.5 を通過して菌体除去に努めたこと、3) 冷アセトン使用の場合は常に -20°C で操作したこと等である。

また蠟Dの二次画分を得るためには、Jollés らの超遠心分画法、田中らのアセチル化蠟Dのクロマト分画法、鹼化蠟D成分の精製等による方法が用いられた。

4. 菌体画分の化学および生物活性に関する実験方法

a) Gas-chromatography

今回の検索が主として菌体リポイドに向けられたため、菌体画分の有する脂肪酸の検出のために、島津 GC-IC 型 Gas-chromatography が使用された。検出用には内径 3mm、長さ 75cm の、また分取用には内径 1cm、長さ 37.5cm のスティンレススチールカラムが使用され、溶媒としてはヘキサン、ベンゼンその他各種の有機溶媒、キャリアガスとしては N_2 、液相としては DEGS, Ap-L, OV-17, SE-30 等が用いられた。DEGS は脂肪酸異性体、二重結合物等の分離能に優れている。Ap-L を使用すると不飽和および分枝脂肪酸が、飽和直鎖脂肪酸のそれぞれ前および後に出る。OV-17 と SE-30 は高分子化合物の検出に適している。脂肪酸の検出には、あらかじめ資料をエステル基交換試薬で処置しておく必要がある。すなわちリポイド含有被検体約 100mg を 10ml の K-metoxylate (無水メタール 200ml に金属 K 1g を加えたもの) に混じ、Soxhlet を使用して 80°C 40分間還元抽出、4~5 倍の蒸留水を加えた後、石油エーテルで不飽和物を抽出除去、塩酸で酸性とした後、再び石油エーテルで抽出すると、メチルエステル化した脂肪酸を得る。これを溶媒に溶かしてガスクロマトで検出する。なお、菌体多糖体構成成分およびアミノ酸の分析も、本器を使用して行なつた。

b) Mass Spectrometry

日立製作所製 Mass Spectrometer RMH6 を用い、使用電圧は 80V である。

c) 生物活性検査法

資料の生物活性を検討するには、すべて感作および非感作動物の両者が使用され、アレルギー反応の有無が調べられた。動物は主として 2.5kg 前後の兎、また一部 400g 前後のモルモットが使用された。感作のためには結核死菌 $H_{97}R_v$ (10mg/ml) を含有する Freund の adjuvant を使用し、兎ではその 0.5ml、モルモットでは 0.1ml を皮下に注入し、約3週後 OT によるツ反を検して、その陽性を確認したのもをもつて感作動物とした。対照とした非感作動物は、ツ反を検してその陰性で

あることを確かめた無処置のものである。

試験資料はすべてその 0.5mg を使用。兎の場合にはこれを 0.1ml の Freund の incomplete adjuvant に混じ、これを皮下または肺に注入する。皮下検定法の場合には、一動物の皮下 4~6 カ所程度の注入を行ない、経時的に皮下を採取し、伸展標本および切片標本として検索した。肺注入法の場合には、ビニール細管を通して経気管支的に資料を肺内に注入し、経時的に動物を屠殺剖検した後、注入局所の切片標本を作成する。いずれの場合も、同一資料の同一日数の被検標本が 3 コ以上となるように配慮し、特に重要な資料に関しては、数回同じ検定が繰り返された。肺注入法による検定は類上皮細胞形成能を、また皮下注入法は非特異肉芽形成能をみるのに便である。

5. 菌体画分の化学と生物活性

a) アセトン可溶脂肪 (As-F)

精製 As-F の gas-chromatography の結果は図 2 に示す通りである。この画分には C_{12} , C_{14} , C_{16} , C_{18} 等の飽和脂肪酸の他に C_{14} , C_{16} , C_{18} 等の不飽和脂肪酸が存在する。この不飽和酸は水素添加で容易にそれぞれの飽和酸へと変化する。またメチル基 1 コを側鎖として持つ C_{17} , C_{19} 酸が認められた (Me- C_{16} , Me- C_{18})。これらの他に 3 コのメチル側鎖を有する C_{22} , C_{24} 脂肪酸が存在する。これらの比較的高級の脂肪酸の 1 群は、いわゆるフチオン酸に属するものであつて、側鎖 C_{24} 酸は C_{27} -フチオン酸と考えられるものである。

As-F は感作動物においてさえも、ほとんど組織反応を示さない。注入直後にみられる非特異的異物反応は、主として媒体である流パラ・ラノリンによるものである。これは初期の好中球滲出炎、軽い壊死反応に続いて、注入 1 週頃ごく軽度の肉芽反応として現われる。この反応は 2 週以後瘢痕性に消退する。また巨細胞が出現し、細血管周囲にごく軽いリンパ球、形質細胞の増殖を残すことがある。

b) 磷脂質 (Phos.-A₃)

A₃ 画分脂肪酸部分のガスクロマトによる分析結果は図 3 に示す通りである。すなわちパルミチン酸、ステアリン酸のほかに、メチル側鎖のある C_{18} 酸が検出されることがある。また高級脂肪酸としては trimethyl- C_{22} , - C_{24} 酸、すなわちフチオン酸部が相当量に検出される。この画分の生物活性は、資料によつて著しい変動がある。抽出初期の段階では、本画分は感作動物に相当強い類上皮細胞形成作用を示し、その活性は後に述べる蠟 D 画分に次ぐものと思われた。しかし精製を進めた段階では、この活性はエーテル、アルコールによる再抽出不能の画分に移行し、本来の磷脂質画分からは次第に活性

Fig. 2. Gaschromatogram of Lipid from Acetone-soluble Fat

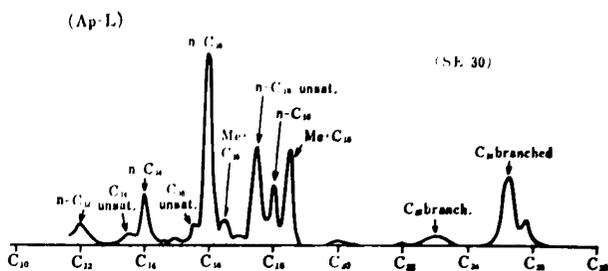


Fig. 3. Gas-chromatogram of Phosphatide (AP-L) (DEGS)

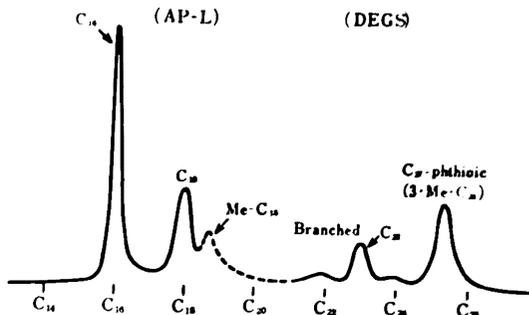
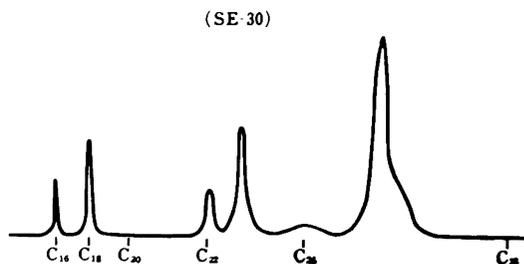


Fig. 4. Gas-chromatogram of Phthioic Acid Fraction from Acetone-soluble Fat



が消失して、本画分は単に泡沫細胞肉芽形成能を留めるのみとなつた。

c) フチオン酸画分

精製 As-F をアセトンに溶解、Sephadex LH-20 によつて分画すると、比較的挟雑物の少ないフチオン酸を得ることができる。図 4 はその画分のガスクロマトであつて、大部分が 3-メチル側鎖を有する C_{22} , C_{24} 酸であることが明らかである。これらを感作動物の肺、あるいは皮下に注入しても、泡沫細胞性の肉芽を作るのみで、類上皮細胞巢の形成は全くない。ただし個々の細胞の中には類上皮性格を有するものも現われるが、これは後に述べるように各種の脂肪酸でもたらされる細胞形態の変化に類似したものである。

d) 各種脂肪酸の生物活性

市販されている各種脂肪酸のうち、ガスクロマトで検してほぼ使用可能の純度にとみなされたものの生物活性を、感作動物の皮下で検したものが表 2 である。ス

Table 2. Mesenchymal Reactions to Fatty Acids in Rabbits

	1w	2w	3w	4w	Giant cells
C ₆ -caproic	-	+	-	-	
C ₁₀ -capric	-	+	+	-	
C ₁₂ -lauric	-	+	-	-	
C ₁₄ -myristic	-	-	-	-	+
C ₁₆ -palmitic	-	+	+	-	+*
C ₁₈ -stearic	-	+	++	++	+*
C ₁₈ -oleic	-	+	-	-	+
C ₁₈ -linolic	-	-	-	-	-
C ₁₈ -linolenic	-	-	-	+	+
C ₂₀ -arachidic	-	-	-	(+)	+
C ₂₂ -behenic	-	+	++	+	+*
C ₂₂ -elucic	+	+	-	-	+
C ₂₆ -serotic	-	-	-	-	+*
C ₂₇ -phthienoic	-	-	-	(+)	+
C ₂₈ -mycolic	-	-	-	-	++

* Tuberculoid

テアリン酸、ベヘニン酸で非特異肉芽の形成があり、またこれらを含む数種の脂肪酸で小結節形成のみられることがある。結節はリンパ球浸潤に囲まれた泡沫細胞集団であるが、時に個々の細胞が類上皮型となる場合がある。しかし全体としては、類上皮細胞巣となることなく消退する。これはフチオン酸画分で起こる病変とはほぼ同様のものである。表のうち C₂₇-phthienoic と記したものがこれである。他に C₂₈-mycolic とあるものは蠟Dより得た脂肪酸画分で、以上の2つは市販のものではない。なお C₁₄ 以上の比較的高級の脂肪酸では、ほとんど例外な

Fig. 5. Gas-chromatogram of Wax A-lipid (OV-17)

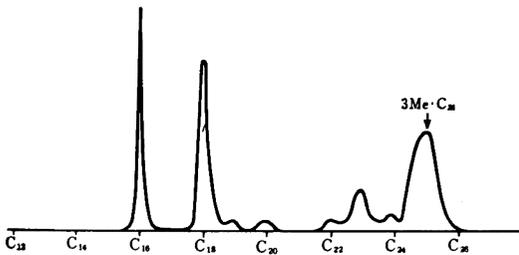
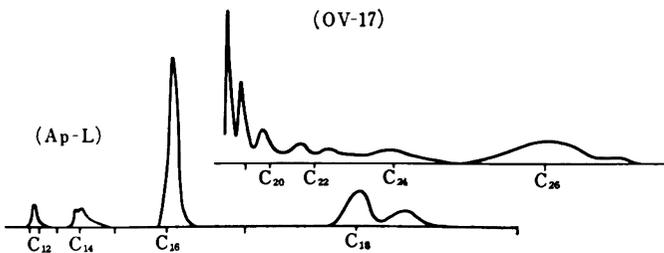


Fig. 6. Gas-chromatogram of Wax C-lipid (OV-17)



く巨細胞が現われる。異物型、ラングハンス氏型両者があるが、これらは異物反応として出現するもので、結核特異の意味はない。

e) 蠟 A (WA)

WAの脂肪酸部分として、パルミチン酸、ステアリン酸の他にフチオン酸部が検出された。フチオン酸部は上述の As-F, Phos.-A₂ と同様、3-メチル側鎖を有する C₂₂, C₂₄ 酸と思われるものである。少量の直鎖飽和 C₂₀, C₂₂, C₂₄ 酸が、これに付随して現われる (図5)。WA画分を動物に注入しても、感作、非感作にかかわらず、ほとんど活性を示さない。異物反応としての炎症と、後にわずかの細血管増殖を残す程度に経過する。

f) 蠟 B (WB)

この画分は、淡黄色泥状物として得られるが、他に我々は多量の淡褐色液をこの画分として採取した。後者の組成について種々検討の結果、これは dibutyl phthalate および dioctyl phthalate であると判明し、これによつて本物質が抽出操作の途中で混入したビニール可塑剤であると推定された。なお本来の WB よりは、飽和直鎖の C₈, C₁₆, C₁₈, またメチル-C₁₈, フチオン酸部分 (C₂₂ および C₂₇) が検出された。なお得られた WB 画分は、ほとんど生物活性を示さない。

g) 蠟 C (WC)

WC画分の主成分は cord factor と呼ばれる trehalose の dimycolate であるとされ、Noll ら (1954)⁹⁾ によつてその化学構造が示されている。しかし WC は cord factor のみより成るものではなく、C₂₂-C₂₆ 脂肪酸の triglyceride その他を含んでおり、我々の検査でも、そのリビッド部分のガスクロマトは、C₁₆, C₁₈ に加えて C₂₄, C₂₆ 等の高級脂肪酸の存在を示している (図6)。本画分は兎に対してはほとんど生物活性を示さない。しかしモルモットには毒性が強く、肺内注入で感作、非感作両群とも、相当顕著な肺出血を示すことが多い。このことは cord factor の毒性と呼ばれてきたものが、血管障害毒として働く可能性を示している。

h) 蠟 D (WD)

筆者は先の日本病理学会の講演で、WDが強い類上皮細胞巣形成能を有することを指摘した (1960)⁴⁾。WDによつて作られるこの病巣は、典型的な類上皮細胞より成るもので、夥しいリンパ球の浸潤、増殖をこれに伴っている。好中球滲出に基づく壊死は全くなく、肉眼的にきれいな膠様固形病変として認められる。その後 WDの精製を進めた現在では、この病変形成能は更に強くなり、感作動物では1週後、非感作動物では3週後より、明瞭な病巣形成が認められる。

WDはミコール酸と多糖体とが主成分

で、これに少量のペプチドおよびアミノ糖が添加されたものである。その構造式が Lederer (1962)⁹⁾や White ら (1964)¹⁰⁾ によつて提出され、これは多少の論議を残しながらも、現在ほぼ認定されたものとなつている。しかし、WD の脂肪酸部分がミコール酸のみより成るか否かは多少問題で、筆者らの得たガスクロマトによる成績では、他にフチオン酸相当部分の存在することが確かめられた。このフチオン酸相当部は操作の途中でミコール酸よりはずれたものか、あるいは WD の構成成分をなすものか、単なる挟雑物か、現在なお検討中である。

WD の生物活性としては以上述べた類上皮細胞形成能の他に、Reffel and Forney (1948)¹¹⁾ によつて adjuvant 効果を有する点が指摘され、最近この方面での研究が盛んとなつた。その他凝集反応の抗原となり、またツ反応の反応元としての作用がある。後者は混在するツベルクリン蛋白によるものであるとする考えが強く、WD の有するツ反感作能も、本来有するその adjuvant 作用にツベルクリン蛋白添加で惹起された現象であると解されている。

i) WD-subfraction の生物活性

WD をエーテル溶液とし、Jollès ら (1962)¹²⁾ に従つて 50,000g で遠心分画する。成績は表3に示された通

Table 3. Biological Activities in Rabbits of Subfractions from Wax D
(1) Subfractions from Centrifugal Fractionation in Ether (Jollès, 1960)

	Adjuvant effect	Granuloma formation	
		Nonspecific	Epithelioid
WD	++		+++
Dp15	+	+	++
Dp70	+	+	±
Dp150	+	+++	±
Ds	-	-	-

り、15分遠心で沈澱する画分(Dp15)はWDとほぼ同様の生物活性を持ち、150分遠心画分(Dp150)には非特異肉芽形成作用が強い。また150分遠心上清(Ds)には、組織反応を起こす力はほとんどない。

田中(1963)¹³⁾はWDのsubfractionを得るために、WDをアセチル化したacetyl-D(AD)を使用する法を考案した。すなわちADをヘキサン可溶部(ADhs)と不溶部(ADhi)とに分ち、(ADhs)を珪酸カラムにかけ、ヘキサンで溶出する。かくしてADhsをAD₁₋₆の6画分に分画して、アミノ酸部を有している画分(AD₁₋₄)と、有しない画分(AD₅₋₆)に分かつことができた。かくして得たアミノ酸含有画分に、WDの有するadjuvant作用が残つてくる。今回、田中氏らとの共同研究として、各種菌より得た画分の病巣形成能が、筆者の研究室で検討され、表4に示すような結果が得られた。すなわちADhiにはWD類似の活性が残っているが、ADhsでは類上皮細胞形成能は著明に減弱する。ことにAD₅には活性はほとんどなく、AD₆では病巣が作られるが、それは非特異性肉芽に近いものである。AD₅のadjuvant活性は、H₉₇Rvの一種より得た画分に強く現われたが、同じ画分が類上皮細胞形成能を示さなかつたことは注目に値する。すなわちadjuvant効果は、非特異肉芽形成能と関係するが、必ずしも類上皮肉芽形成とは併行せぬという成績であつた。なおWDをアセチル化すると、赤血球凝集元としての作用は完全に消失し、またツ反感起能も消失する。これはWDの多糖体部、また遊離アミノ基のアセチル化に基づくものであるとされている。

WDの低画分を得る第3の方法は鹼化である。WDを鹼化すると、そのadjuvant効果は消失する。鹼化して得た脂肪酸分の大部分は、前述のようにミコール酸といわれているが、この画分には、WDの有する生物活性はほとんどなく、わずかに細胞の類上皮化作用が残つているのみである。これは混在するフチオン酸部によるもの

Table 4. Biological Activities in Rabbits of Subfractions from Wax D
(2) Subfractions from Column Chromatography of Acetylated Wax D (Tanaka, 1963)

	Tuberculin reaction		HA anti-genicity	Adjuvant activity	Granuloma formation	
	Sensitizing ability	Eliciting ability			Nonspecific	Epithelioid
WD (H ₉₇ Rv)	++	++	+++	+++		+++
AD (")	++		-	++		++
WD (Aoyama B)	++	++	+++	+++	-	+++
ADhi (")	+		-	+++		+++
AD ₃ (")	-		-	±		-
AD ₆ (")	-		-	++	+	+
WD (H ₉₇ Ra-n)	+	++	+++	+++		+++
AD ₃ (")	-		-	-		±
AD ₆ (")	-		-	+++	+	-
	Tanaka et al.				Yasuhira et al.	

か、ミコール酸個有の作用か、いずれであるかなお不明である。いずれにしろその生物活性は微弱である。肉芽形成能はほとんどない。また WD の水溶部には血球凝集元、ツ反元としての作用の他に、感作動物に Arthus 型壊死反応を起こさせる力をもっておりこれを肺に注入すると見事な空洞形成を示す場合がある。古賀ら(1968)¹⁴⁾はこの水溶部を Sephadex G-50 で I, II, III に3分画し、更に G-100 を用いて I を2つの二次画分 (IA, IB) に分画した。I は大分子, II, III は小分子の多糖体を含む、後者はセロファン膜を通過する。血球凝集元としての抗原は I 画分に存するが、II, III 画分は PCA 抗原を含んでいる。またこれらの画分には adjuvant 作用は認められないが、adjuvant 作用の強い WD より得た水溶部を分画すると、III 画分が多量に現われ、その逆も成立する(古賀ら)。これらの画分を感作動物皮下に注入すると、II, III で肉芽形成が認められ、IA, IB には作用がない。このとき肉芽の類上皮化は全く認められない。以上の事実に基づいて、WD 鹼化両画分の混和液を使用して実験を行なった。すなわち WD 水溶物のセロファン透析部あるいは非透析部を半量と、脂肪酸部半量とを混和して、同様に感作動物に注入する。いずれの場合にも見事な類上皮細胞巣が作られるが、その作用は透析部と脂肪酸部混合において著明であつた。また作られた類上皮肉芽の大きさは、水溶部単独で作られた非特異肉芽より大きいものであつた。

以上 WD の subfraction の生物活性を総括すると、次のごとくである。すなわち WD は試験管内凝集反応、赤血球凝集反応の感作元として働くが、これは WD の有する多糖体部の抗原性に基づくものであり、その作用

基は WD のアセチル化によつて消失する。WD はまたツ反元としても働くが、これは多分混在する蛋白によるもので、その作用はアセチル化によつて減弱する。adjuvant 効果は WD の鹼化によつて消失し、アセチル化により減弱する。非特異肉芽形成能は WD 水溶部多糖体の II, III 画分に著しく、この画分はまた PCA 反応元として作用する。またこの画分含有量が、adjuvant 効果の有無と関係する。類上皮細胞巣の形成能は WD のアセチル化によつて減弱し、鹼化 subfraction には全くない。そしてその多糖体画分の肉芽形成と、リビド部分の類上皮化作用が重なると、著明な類上皮細胞巣形成能を回復する。

6. ツ型遅延反応と類上皮細胞巣形成超遅延反応との関係

類上皮細胞巣がアレルギー反応として形成されることは、上述の諸事実より明らかとなつたが、この超遅延型と呼ばれる反応と、従来知られているツベルクリン型遅延反応との分離ははたして可能か否か。これを検するため以下の実験を行なった。

a) 脱感作実験

結核死菌感作でツ反強陽性となつた兎の皮下に、10倍 OT または菌培養濃液の約 1ml を連日注射する。初期には注射局所に強い硬結を生ずるが、注射を続けるとこの硬結形成は次第に減弱し、これと共にツ反も弱くなつて、2~3 カ月後にはほぼツ反陰性の状態となる。これに型のごとく WD の肺内注入を行なつて、2 週後に屠殺検索すると、ツ反の陰性転化にもかかわらず、全例著明な類上皮細胞巣の出現が認められた。

Table 5. Biological Activities in Rabbits of Subfractions from Wax D
(3) Subfractions from Column Chromatography of Saponified Wax D (Tanaka, 1968)

	HA Antigenicity	Tuberculin Antigenicity	Adjuvant activity	Granuloma formation	
				Non-specific	Epithelioid
WD	++	+	+		##
Saponif. Dlip	-	-	-	-	-
Dps	++	+	-	++	-
↓ Sephadex G-50					
Nondialysate	IA	++	-	-	-
	IB	++	-	-	-
Dialysate	II	÷*	-	+	-
	III	÷*	-	++	-
Polysacch.					
	Tanaka et al.			Yasuhiro et al.	

* HA -, PCA +

次に結核死菌 0.1~3.0mg (漸増) の水浮遊液を毎日感作家兎の皮下に注射して、同じく脱感作操作を行なうに、この場合には注射局所に膿瘍を形成し、ツ反の完全消失にいたらない。これに WD または死菌の肺内注入を行なうと、前者では多少弱くはあるが、類上皮細胞巣が形成され、後者では広汎な好中球壊死、更には空洞形成を示す壊死病変および分界肉芽が出現し、これに挟まれて弱い類上皮細胞巣が現われる。

以上2つの脱感作実験で、ツ反と類上皮細胞巣形成とが、解離して現われるという結果を得た。

b) 免疫寛容実験

感作処置に反応せぬツ反陰性動物を、免疫寛容という操作で得ることができるならば、これらの動物で類上皮細胞形成の有無を探ることによって、あるいは問題とする両者の関係を知ることができるかもしれない。この意味でなされた最初の実験は、生下時のモルモットの腹腔に、結核死菌を含む Freund の adjuvant を注入して、免疫寛容を得ようとする試みであつた。このような動物への死菌 1mg の腹腔注入は、動物の発育を著明に阻害

し、ツ反の出現を遅らせるものであることはすでに発表した通りであるが、それにもかかわらずツ反は生後 1.5 カ月で強陽性に出現し、その後次第に低下する。この動物の肺に WD を注入すると、生後 2.5 カ月頃まで著明な類上皮細胞巣を惹起させ、その後反応は弱くなり、3 カ月以後には病巣が現われない。このときツ反強度の山と肺病変強度の山とは一致せず、両者の解離が認められる。(表6)

動物を兎に変えて同様の実験を行なうと、表7にみるように、ツ反は生後1カ月ですでに陽転し、2カ月を過ぎて消失するが、肺の類上皮細胞巣形成は、逆に2カ月までは弱く、以後著明に出現する。なお生後1カ月前後には、感作局所である腹腔に類上皮細胞巣がみられ、このような病巣の著明なものには肺の病変が現われず、その逆もまた成立する。したがってツ反と類上皮細胞形成の解離を示す幼若兎の実験成績は、その読み取りに多少問題が残っている。むしろ両者の解離は、成育後のそれにみるべきであろう。

モルモットの生下時に結核菌腹腔注入を行なつた動物

Table 6. Tolerance-inducing Experiments

(1) Treatment of Newborn Guinea Pigs with Heat-killed Tubercle Bacilli ($H_{97}R_v$ 1mg ip)

Animal No.	Sensitizing injection at birth	Age in day	Tuberculin reaction	Intrapulm. instil. of Wax D	Epithelioid granuloma in the lung			
					1	2	3	4 (w)
102	+	45	##	+			##	
101	+	45	##	+		##		
100	+	51	##	+	+			
98	+	51	##	+				##
97	+	51	-	+			##	
96	+	51	÷	+				##
95	+	53	-	+				##
94	+	53	+	+			##	
93	+	53	-	+		+		
92	+	53	-	+	-			
89	+	75	+	+			##	
88	+	75	÷	+				##
87	+	90	+	+		+		
84	+	99	+	+		+		
81	+	105	÷	+	-			
80	+	105	-	+				(#)
79	+	105	÷	+		-		
78	+	105	-	+			(#)	
76	+	120	+	+		÷		
75	+	120	÷	+		÷		
73	+	120	##	+		-		
72	+	120	##	+		-		
71	+	165	+	+	-			
65	+	180	+	+		-		
64	+	180	+	+		-		
63	+	180	+	+	-			

Table 7. Tolerance-inducing Experiments

(2) Treatment of Newborn Rabbits with Heat-killed Tubercle Bacilli (H₈₇Rv 1mg ip)

Animal No.	Sensitizing injection at birth	Age in day	Tuberculin reaction	Perit. tuberc. foci	Intrapulm. instill. of Wax D	Epithelioid granuloma in the lung		
						3	4	6 (w)
K26-3	+	37	-	-	+	-		
1	+	37	++	-	+	#		
2	+	37	++	+	+		-	
6	+	37	++	+	+			
4	+	37	##	+	+			-
5	+	37	++	##	+			-
K27-1	+	37	++	-	+	##		
5	+	37	++	-	+	##		
6	+	37	++	+	+	-		
2	+	37	++	-	+		##	
3	+	37	++	##	+		-	
4	+	37	++	##	+			
7	+	37	+	##	+			-
8	+	37	++	##	+			-
K24-1	+	57	##	+	+	-		
3	+	57	##	-	+			
2	+	57	##	-	+		-	
4	+	57	##	+	+			
5	+	57	++	-	+			-
6	+	57	-	-	+			-
K25-1	+	57	-	-	+	##		
3	+	57	++	-	+	##		
5	+	57	++	-	+		##	
2	+	57	++	-	+		##	
4	+	57	-	-	+			##
7	+	57	+	-	+			##
K20-3	+	73	-	-	+	##		
2	+	73	-	-	+		##	
5	+	73	-	-	+		##	
4	+	73	-	-	+			##

Table 8. Tolerance-inducing Experiments

(3) Sensitizing at Birth and Resensitizing in Adult of Rabbits

Animal No.	Sensit. at birth	Age in day	Tuberc. react.	Age in day	Tuberc. react.	Resensit.	Tuberc. react. (3w)	Intrapulm. instill. of bacilli	Pulmon. lesion	
									Necrosis	Epithelioid
K37-1	+			54	-	+	##	+	##	##
2	+			54	-	+	÷	+	++	##
K35-1	+	48	-	94	+	+	##	+	##	##
2	+	48	-	94	+	+	##	+	##	##
K34-2	+	52	++	98	+	+	##	+	##	##
K33-1	+	120	-	166	-	+	##	+	##	##
K31-1	+	124	-	170	-	+	##	+	##	##
2	+	124	##	170	++	+	##	+	##	##
K30-1	+	174	÷	220	++	+	##	+	##	##
2	+	174	-	220	÷	+	##	+	##	##
3	+	174	-	220	+	+	##	+	++	##
4	+	174	+	220	##	+	##	+	##	##

に、同じ抗原の皮下注入で再感作を行なうと、表8に示すようにツ反応は例外なく強陽性に出現し、この意味では明らかに免疫寛容を示さない。この動物に死菌の肺内注入を行なうと、広汎な病巣が現われるが、それは好中球滲出壊死を主とする結核病巣である。すなわち菌体多

糖体に対する Arthus 型反応を主とした肺病変が、類上皮細胞巣を伴って、これらの動物に現われることを示している。以上のように、生下時感作という方法は、ツ反応においても類上皮細胞巣形成においても、両者の解離を示す事実を得ることができたのではあるが、免疫寛容

Table 9. Tolerance-inducing Experiments

(4) Sensitizing *in utero* and Resensitizing in Adult of Rabbits

Animal No.	Treatment with tuberc. bac. at days before birth	Age in day after birth	Tuberc. react.	Retreatment with tuberc. bacilli	Tuberc. react. (2w)	Intrapul. instill. of Wax D	Pulmon. lesion	
							Foam-cell	Epithelioid
K50-1	11	30	-	+	-	+	+	
2	11	30	-	+	-	+	+	
K48-1	9	51	-	+	-	+	+	-
2	9	51	-	+	-	+	++	
K47-2	0	51	-	+	(+)	+	+	(+)
K44-3	8	83	-	+	++	+	+	
4	8	83	(++)	+	++	+		++
5	8	83	-	+	(+)	+	++	-
K43-2	11	83	(+)	+	++	+		++
3	11	83	(++)	+	++	+		(++)
4	11	83	(+)	+	++	+		++
5	11	83	(+)	+	++	+		++
K41-1	5	132	++	+	++	+	++	
2	5	132	++	+	++	+		++
K37-1	0	170	-	+	-	+		++
K35-2	0	203	+	+	+	+		++

Table 10. Effects of Immunodepressors on the Formation of Epithelioid Granuloma

Drug	Dosage	Sensit. with tuberc. bacilli	Intra-pulmon. instill. of wax D	Tuberc. react.	Auto-psied	Lympho-cytopenia	Lymphoid tissue depression	Lung lesion			Hilar lymph node tuberc.
								Necrosis	Non-spezif. granul.	Epithelioid granul.	
Control		-	+	+		-	-	-	++	-	+
		+	+	++							
Predonine	2mg/kg	+	+	++		-	+	-	(++)	++	-
		+	+	++							
Imuran	6mg/kg	+	+	++		+	÷	+	++	++	+
		+	+	++							
6-MP	6mg/kg	+	+	++		++	(-)	+	++	(++)	+
		+	+	++							
AM-D	20μ/kg	+	+	++		-	+	+	++	(±)	-
		+	+	++							
		2w		2w							

を招来することができなかつた。そこで次のように胎生時抗原処置を試みた。兎の出産前 10 日前後の胎児腹腔に、結核死菌 0.2mg の注入を行なつて、免疫寛容成立の有無を検討した。成績は表 9 に示す通りである。これらの胎生時感作処置動物ではツ反の発現が弱く、かつその遅延を示すものようであるが、これに死菌による感作を試みると、生後 3 カ月以上の動物ではほぼツ反の陽性転化を招来した。これらの動物に WD の肺内注入を行なうと、ツ反陰性の幼若兎では、注入部位に小さい好中壊死巣を形成するのみで、類上皮細胞巣を作らない。ツ反陽性の成熟動物では、類上皮細胞巣が作られるが、

その病巣は概して虚弱な感がある。すなわち本実験でも、免疫寛容は完全な意味では出現しなかつたが、胎生期抗原処置で免疫成熟の遅延すること、類上皮細胞巣は免疫未成熟状態では形成されぬこと、ツ反応と類上皮細胞巣形成との解離がみられること等が明らかとなつた。

c) 免疫抑制剤による実験

成熟モルモットに結核感作処置を行なつた後、ツ反の陽転を確かめて 2 週後に肺に WD を注入する。このとき動物を 2 群に分ち、その 1 群は感作頭初より、また他の 1 群は抗原の肺注入時より、次の薬剤投与を開始する。薬剤は Predonine 2mg/kg, Imuran 6mg/kg, 6-

である。この事実は古くより知られたが、ここに現われるリンパ球の意義に関しては、ごく最近まで全く伺いえないものとして残されてきた。近年リンパ球の免疫学上の機能が明らかにされるにいたり、結核病巣に出現するリンパ球も再び注目されてきたのであるが、ツベルクリン反応との関連以外に、リンパ球がはたしていかなる役目をもつものか、その点全く不明のままに過ぎてきた。我々の実験結核において現われる病巣でも、人の例と同様夥しいリンパ球増殖浸潤が、形成された類上皮細胞巣に随伴して現われる。WDが感作動物において類上皮細胞巣を作ることはすでに述べてきた通りであるが、この場合にも病巣部のリンパ管がリンパ球で充満されている像をしばしばみることができる。

先に記載したモルモット生下時結核死菌腹腔注入実験でみられた経験に、次のごときものがあつた。流パラ・ラノリンに包埋された結核死菌を注入された腹腔局所には、まず非特異炎症が起こつて、単球組織球増殖の強い非特異肉芽が作られる。第2週以後、この肉芽の一部にリンパ球の浸潤増殖が開始され、リンパ芽球の集団が現われると、このリンパ芽球に接する肉芽細胞に類上皮細胞化が現われる。注入された抗原(結核死菌)は、腹腔に留まるばかりでなく、全身散布が起こるのであつて、腹腔肉芽の類上皮化が起こる頃には、すでに全身リンパ組織(胸腺、リンパ腺等)に立派な類上皮細胞結節が多発しており、この結節周囲ではリンパ芽球の増殖が著明である。肺、肝等でも、抗原散布を示す泡沫細胞肉芽が多数にみられるが、これらの臓器では、このときまだ類上皮細胞は現われない。ちなみに、このような幼若動物の肺、肝等の組織には、まだリンパ球浸潤巣が存在しない。

以上の事実に基づいて、類上皮細胞形成機作が図7のように示された。体内に入った結核菌は先ず単球、組織球に貪食され、抗原の形に破碎される(実は第1段は好中菌貪食であつて、これが単球、組織球の貪食、増殖を

刺激するが、ここにはこれを除外して考える)。この抗原が放出されてリンパ球に及び、その幼若化と増殖とを刺激する。リンパ芽球となつて増殖するリンパ細胞では、抗原に対応する抗体が作られるが、この抗体は抗体産生細胞のごく近辺でのみ働くものようである。かくして抗体が、抗原を保有する肉芽細胞に到達すると、抗原保有細胞内での抗原抗体反応(逆アレルギー)が起こるもので、これによつて細胞が類上皮型へと変貌し、同時に増殖刺激をも受けるものようである。かくして類上皮細胞が完成される。

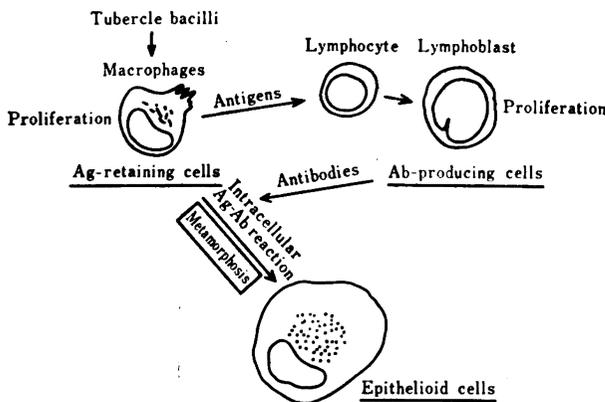
以上の仮説を支える1つの実験をあげておく。tritiumで標識したWDを、モルモットの腹腔単球に貪食させ、これを試験管内で培養する。autoradiographyで検すると、細胞のWD保有が明らかである。この細胞に、別に用意した結核感作モルモットより得たリンパ細胞(脾細胞)を、この培養細胞に添加しておくと、抗原保有細胞の類上皮細胞化が明らかに認められる。非感作細胞を添加しても、この類上皮化が実験群ほど明らかには起こらない。ただしこの実験は目下進行中のものであつて、まだ十分討論に耐えうるほどのものでない。

8. 総括

結核病巣の特異性を担っている類上皮細胞巣が、結核菌体のいかなる化学成分によつて形成されるものかを再検討した実験の結果の示すところでは、それが菌体WDによるものであることが明らかとなつた。従来信ぜられていたSabin説は、抽出されたフチオン酸が生物活性を持たぬことより明らかに否定され、また磷脂質の有する活性も、実はこれに混在するWD部分によるものであることが示された。また各種リポイドによる類上皮細胞巣形成も、多分にWD混在によるものと推定される結果であつた。結核病変に伴う好中球滲出壊死、更には空洞形成にいたる一連の病変は、菌体多糖体(または蛋白)に起因する反応の結果である。

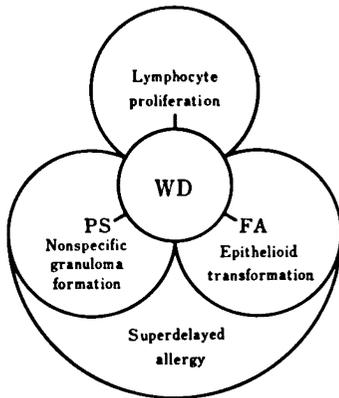
WDによる類上皮細胞巣形成様式が図8に示されている。類上皮細胞巣は、リンパ球と関連する超遅延型のアレルギーによつて、WDを抗原として作られるものであることが示されたが、WDそのものにリンパ球増殖作用があり、これが超遅延型アレルギー惹起の基盤を提供する。WDの多糖体(PS)は、即時型アレルギーとしてはArthus型的好中球壊死反応をもたらすが、超遅延型としては肉芽増殖を結果する。このPSにある即時、超遅延の両反応惹起抗原作用基が、同一のものか否かはまだ十分明らかでない。WDの有する他の成分である脂肪酸(主としてミコール酸)は、それ自体では生物活性の少ないものである。しかしこれをリポイド

Fig. 7. Induction of Epithelioid Cells in Superdelayed Hypersensitivity



抗原の形してと細胞に鈎着させ、細胞内で逆アレルギーを惹起させる時には、その細胞の変容を主宰する。このように WD の有するそれぞれの構成成分による生物活性、その個別的作用では類上皮細胞巣は作られない。これらの作用が complex として WD のうちに共存し、超遅延型アレルギーを介して互いにその生物活性が共約すると、ここに類上皮細胞が出現する。WD の有する類上皮細胞形成の秘密がここにある。

Fig. 8. Mechanism of Epithelioid Granuloma Formation by Wax D



謝 辞

本講演の機会を与えて下さいました内藤会長、また多年本研究を支えて下さいました研究所の先輩、同僚の諸氏に感謝の意を表します。また貴重な資料を提供して下さいました諸施設の方々、殊に九大杉山研究室の田中渥、古賀敏生、石橋凡雄の諸氏に感謝します。なお教室における本研究の協力者は次の通りである。(小原幸信、由本

伸)、竹田俊男、高橋権也、浜本康平、浅本仁、児島昭徳、田畑宏雅、木村邦子、渡辺晴美、川嶋敏子の諸氏。

文 献

- 1) Sabin, F. R. et al.: J. Exp. Med., 52: Suppl. No. 3, 1930.
- 2) Boissevain, C. H. and Ryder, C. T.: Am. Rev. Tuberc., 24: 751, 1931.
- 3) 山村雄一他: 結核, 29: 143, 昭 29. Yamamura, Y. et al.: Proc. Jap. Acad., 31: 36, 1955.
- 4) Yasuhira, K.: Acta Path. Jap., 10: 419, 1960.
- 5) Anderson, R. T.: J. biol. Chem., 74: 525, 1927.
- 6) Asselineau, J.: Advances in Tuberculosis Research, 6: 1, 1953. Asselineau, J. et al.: Am. Rev. Tuberc., 67: 853, 1953.
- 7) Choucroun, N.: Am. Rev. Tuberc., 56: 203, 1947.
- 8) Noll, H. et al.: Biochim. Biophys. Acta, 20: 299, 1956.
- 9) Lederer, E. et al.: Arch. Biochem. Biophys., Suppl. 1, 1962.
- 10) Stewart-Tull, D. E. S. and White, R. G.: J. gen. Microbiol., 34: 43, 1964.
- 11) Raffel, S. and Forney, J. E.: J. Exp. Med., 88: 485, 1948.
- 12) Jollés, P. et al.: Arch. Biochem. Biophys., Suppl. 1: 283, 1962.
- 13) Tanaka, A.: Biochem. Biophys. Acta, 70: 483, 1963.
- 14) Koga, T. et al.: Biochem. Biophys. Acta, 158: 144, 1968.
- 15) Levey, R. H. and Medawar, P. B.: Ann. N. Y. Acad. Sci., 129: 164, 1966.