

結核免疫における血清蛋白の意義

〔第3報〕 牛血清又はチフスワクチンで感作した
家兎血清及びその蛋白分画の結核菌の
試験管内発育に及ぼす影響

京都大学結核研究所第5部（主任 教授 辻 周介）

辻（旧姓 武岡）純 子

前報¹⁻⁴⁾において、家兎を生菌又は死菌ワクチンを以て十分に免疫した場合血清は著明な抗結核菌作用を獲得すること及び正常無処置の血清 Albumin 分画が結核菌の発育を増進する作用を有するに對して、免疫動物よりの血清 Albumin では其作用が低下しており、一方 α -、 β -、及び γ -Globulin分画は免疫及び非免疫の動物に於て差異がないことを報告した。この点から考えると、家兎の体液性免疫の本態は、抗原抗体反応という観点からすると非特異的な現象であると考えられる。

本報においては、結核とは関係のない非特異的な抗原により感作された家兎が、特異的に結核抗原を以て免疫された場合と極めて酷似した性質を有することを報告しよう。

実験材料及び実験方法

感作方法は各実験成績の項で記す。

Ring法⁵⁾：本実験方法の手技については既に原著に詳しく報告しているので、こゝでは省略する。又血清蛋白の分画法も前報⁴⁾に記したところである。

蛋白分画の検討に用いた培地は前報記載と同様であつて、2種の培地即ち Albumin 含有の A-培地と Albumin を含まない O-培地とを用いた。

培養方法としては SCM を用い、人型 H37Rv 菌を用いた。

実験結果

1. 牛血清感作実験

体重 2.7kg の雄の家兎 6 頭を 2 群に分ち、4

頭を牛血清感作群、残りの 2 頭を無処置対照群とした。

感作方法は次の通りである。新鮮な牛血清を Seitz のフィルターを通して滅菌し、その 1ml 宛を 7 回隔日に静注する。最終注射後 10 日目に Arthus 反応及び血清の沈降価を検定し、感作群 4 頭のすべてに Arthus 陽性なることを認めた。又 1 例の沈降価を第 1 表に示す。之等の動物より採取した血清を以て一方 Ring 法により結核菌の発育に及ぼす影響を検すると共に、他方 Zone electrophoresis の方法で血清蛋白分画を行い、夫々の分画の結核菌発育に及ぼす影響を SCM にて検した。

第 2 表は Ring 法による成績を示す。生塩水稀釈培地中での H37Rv 菌の発育は感作動物血清を混ざると明らかに対照正常血清を混じた場合よりも抑制される。又 Kirchner 原液稀釈培地中では、どちらの血清の場合にも菌発育は極めて良好で差がない。同様の実験成績は弱毒の H37Ra 菌を用いた場合にも認められた。

これらの成績から感作家兎血清では、正常血清と比べて、その結核菌発育増進作用が低下しているが、菌発育抑制作用が増強している様なことはない事が分る。この結果は前回報告²⁾の特異的結核免疫の場合と全く同様である。

第 3 表は、感作及び正常血清より分離した各分画を混ぜた O-及 A-培地中での H37Rv 菌の発育状態を比較して表示したものである。容易に

看取し得ることは、感作及び正常血清分画の間の唯一の差異は Albumin 分画の態度の相違だけである。即ち、正常 Albumin分画は結核菌発育を著明に増進し得るのに対し、感作血清 Albumin は完全に菌発育を阻止している。γ-Globulin 分画は、どちらも増進も抑制もしていない。此点前報⁴⁾に於て、正常血清 Globulin も高い濃度では H37Rv 菌の発育を僅に抑制し得ること

も報告したのと一致しない。恐らく之は γ-Globulin 分画の菌発育抑制作用の不安定さ又は微弱さに基く誤差であろう。

以上の実験成績より明らかなことは、牛血清感作家兎血清にみられる菌発育抑制能は、Albumin 分画の菌発育増進作用の低下によりもたらされるもので、γ-Globulin 分画の菌発育抑制作用が増進した結果ではないことである。

第 1 表

Titer of the Precipitation Reaction in Serum of a Rabbit Sensitized with Bovine Serum

Titer of dilution of serum	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024
Titer of antigen										
1 : 100	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
1 : 500	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-

第 2 表

Results Obtained by the Ring Method in Sera of Rabbits Sensitized with Bovine Serum

	Growth of H37Rv strain		Growth of H37Ra strain	
	Diluted with saline	Diluted with Kirchner's liquid	Diluted with saline	Diluted with Kirchner's liquid
Sensitized rabbits	* ±	‡	-	‡
Control rabbits	‡	‡	‡	‡

* ± : In 8 experiments, 5 were (+) and 3 were (-)

第 3 表

Effect of Serum Protein Fractions of Rabbits Sensitized with Bovine Serum on the Growth of H37Rv Strain *in vitro*

Protein fraction	Culture media		O-medium					A-medium					
	Concentration of protein fraction	Original	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	Original	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Albumin	Sensitized serum		-	-	-	-	-		‡	‡	‡	‡	‡
	Control serum	-	‡	‡	‡	‡	+	+	‡	‡	‡	‡	‡
α-Globulin	Sensitized serum		-	-	-	-	-		‡	‡	‡	‡	‡
	Control serum		-	-	-	-	-		‡	‡	‡	‡	‡
β-Globulin	Sensitized serum		-	-	-	-	-		‡	‡	‡	‡	‡
	Control serum		-	-	-	-	-		‡	‡	‡	‡	‡
γ-Globulin	Sensitized serum		-	-	-	-	-		‡	‡	‡	‡	‡
	Control serum		-	-	-	-	-		‡	‡	‡	‡	‡

Slide culture for 10 days.

抑制作用の増進はない。

血清蛋白分画中 Widal 抗体は γ -Globulin 分画にのみ証明される。

第6表は、各分画の H37Rv 菌発育に及ぼす影響を SCM にて検した結果である。感作血清と正常血清との唯一の差異は Albumin 分画の態度にある。正常 Albumin 分画は 1/2~1/6 の濃度で明らかに発育を増進するに対し、感作 Albumin 分画はいずれの濃度に於ても発育を許さない。 γ -Globulin 及び其他の分画は感作血清と正常血清とで変りがない。

この実験でも、 γ -Globulin 分画の菌発育抑制作用は証明出来なかつた。

以上のチフスワクチン感作家兎における実験成績も牛血清感作の場合と同様に結核ワクチンによる特異的免疫の家兎におけると同じ結果である。

考 按

既報の如く、我々は結核ワクチンによる免疫家兎体液に獲得される結核菌発育抑制作用は、特異抗体の関与に基く真の免疫ではなくて非特異的な現象であることを証明した。今回は、牛血清又はチフスワクチンによつて非特異的に感作された家兎体液も結核菌の発育に対し一定の抑制作用を獲得し得ることを証明した。又この場合にも血清中の沈降抗体の役目は論外であつて、菌発育抑制作用の唯一の源は正常血清の有する菌発育増進作用が感作によつて低下することにある。又血清蛋白分画の結核菌発育に対する作用も特異的結核ワクチンによつて免疫した場合も異種蛋白によつて感作された場合も同様である。即ち Albumin 分画の性質の変化及び血清の Albumin-Globulin 比の変化が、之等の家兎の体液に発生する獲得性抵抗力の主因であ

第 5 表

Results Obtained by the Ring Method in Sera of Rabbits Vaccinated with Typhoid Vaccine

	Growth of H37Rv strain		Growth of H37Ra strain	
	Diluted with saline	Diluted with Kirchner's liquid	Diluted with saline	Diluted with Kirchner's liquid
Sensitized rabbits	+	++	±	++
Control rabbits	++	++	++	++

第 6 表

Effect of Serum Protein Fractions of Rabbits Vaccinated with Typhoid Vaccine on the Growth of H37Rv Strain *in vitro*

Protein fraction	Culture media Concentration of protein fraction	O-medium						A-medium					
		Original	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	Original	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Albumin	Sensitized serum	-	-	-	-	-	-	+	++	++	++	++	++
	Control serum	-	++	++	++	++	+	+	++	++	++	++	++
α -Globulin	Sensitized serum	-	-	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++
	Control serum	-	-	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++
β -Globulin	Sensitized serum	-	-	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++
	Control serum	-	-	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++
γ -Globulin	Sensitized serum	-	-	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++
	Control serum	-	-	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++

Slide culture for 10 days

らうと考えられる。

ある種の細菌による感作又は免疫によつて動物が他の種の菌に対し抵抗性を得るに至る事実は最近の実験医学の問題の焦点の一つである。額田⁹⁾等は多数の実験を行つて、ある株の細菌の自家融解液が結核菌やその他の株の病原菌の感染に対し動物を保護し得ることを報告している。Dubos and Schaedler⁷⁾は *Salmonella typhosa* その他の各種の細菌のEndotoxinによる前処置が結核菌その他の各種の感染に影響し、もし感染が前処置後ある時間をおいて行われるなれば動物に対し保護的に作用し得ることを示している。又更に *Mycobacteria*⁸⁾⁹⁾の菌体成分が前処置のやり方の如何によつて、他種の感染に対し保護的にも又促進的にも作用し得ることを示した。Elberg and Fong¹⁰⁾は *Brucella melitensis* と *Mycobacterium tuberculosis* との間にある種の交叉免疫の存在することを報告している。又 Fenner¹¹⁾も *Mycobacteria* の種々なる菌株間によく似たことを観察している。兎に角、自然抵抗力又は免疫という現象にみられる動物の防衛機能に、非特異的なメカニズムの存在することを認識することが重要になりつゝある。(例えば Properdin system に関する多数の報告の如し)。この意味において、今回の報告もかゝる分野に有意義な知見を加えるものと言えよう。

総 括

家兎を牛血清又はチフスワクチンによつて感作し、それらの動物の血清の結核菌発育に及ぼす影響を *in vitro* で検討した。Ring 法によつて、これらの血清の結核菌発育増進作用の著明な低下のあること及び菌発育抑制作用の増強は

ないことを証明した。

血清蛋白分画を用いての分析的研究の結果は、感作血清における菌発育増進作用の低下は Albumin 分画の増進作用の低下が主因であつて、 γ -Globulin の菌発育抑制作用の増加に基くものではないことを示した。

以上の結果は、生菌又は死菌結核ワクチンで特異的に免疫した場合の血清及び血清分画の作用の変化と軌を一にするものであり、結核免疫の本態の解明に対し重要な示唆を与えるものと考えられる。

文 献

- 1) Tsuji, S., Ito, K. and Oshima, S. : Am. Rev. Tuberc. **76** : 90, 1957.
- 2) Takeoka, A. : Japan. J. Tuberc. **6** : 99, 1958.
- 3) Oshima, S., Fujita, Y., Takeoka, A., Nakajima, M. and Tsuji, S. : Am. Rev. Tuberc. **78** : 884, 1958.
- 4) Takeoka, A. : Japan. J. Tuberc. **6** : 105, 1958.
- 5) Tsuji, S., Oshima, S. and Takeoka, A. : Am. Rev. Tuberc. **77** : 524, 1958.
- 6) 額田晋他 : 「肺結核の特殊変調療法」昭34, 金原出版株式会社.
- 7) Dubos, R.J. and Schaedler, R. W. : J. Exper. Med. **104** : 53, 1956.
- 8) Dubos, R.J. and Schaedler, R. W. : J. Exper. Med. **106** : 703, 1957.
- 9) Schaedler, R.W. and Dubor, R.J. : J. Exper. Med. **106** : 719, 1957.
- 10) Elberg, S.S., Schneider, P. and Fong, J. : J. Exper. Med. **106** : 545, 1957.
- 11) Fenner, F. : Am. Rev. Tuberc. **76** : 76, 1957.