

家兎皮下組織における結核菌の増減 を指標とした結核免疫の研究

第3報 感作後のツベルクリン反応及び沈降抗体の推移 (結核性皮下炎症の免疫血清学的研究)

京都大学結核研究所 第二部 (主任 辻 周介教授)
京都府立洛東病院 (院長 岩井孝義博士)

市 田 新 路

I 緒 言

結核菌を動物皮下に接種するに当り、その動物の前処置の状態如何即ち無処置、感作、脱感作、感作放置等の処置に応じて、注射された菌の形態学的な或いは生死に関する状態が、或る程度変化して現われると云う事実を著者は確める事が出来た。この前処置如何による動物の状態の変化は、免疫血清学的な事実としては如何なる内容を含むものであるか。これが著者の以下の実験の目的である。

元来結核症におけるアレルギーと免疫との関係は、非常に錯雑したものであると考えられている。この点に関しては、すでに教室安平¹⁾の詳細な総説と、独自の理論の発表とがなされている。従つて著者はこの点に深く触れるつもりはないが、たゞ著者の実験と関連する2、3の点を簡単に述べておきたい。

結核症における宿主の抵抗性が、その個体のツベルクリンアレルギーと共に消長する事はよく知られており、この点に関しては我国でも細沼²⁾その他の詳細な報告がある。これはアレルギーと免疫との平行関係を主張する立場よりの報告であるが、これに対して Rich³⁾その他我国では大原⁴⁾の如く、脱感作してツ反応の陰性化した動物においても尚強い結核抵抗性の残存する事実よりして、アレルギーと免疫との理論的な解離を主張する向もある。以上の如き理論上の不一致は、アレルギーと云い免疫と云うその内容が、実は結核のアレルギーや免疫の一面的なものを見ているに過ぎないことに由来す

るものであると云うのが安平の主張である。従つて結核のアレルギーを論ずる場合には、ツベルクリン反応やコッホ現象或いはツベルクリンショックに見られるような生体反応のみでなく、これと同時に抗原抗体反応を試験管内でとらえておく必要がある。この意味では、従来補体結合、沈降、凝集等の諸反応が検索されて来たのであるが、Higginbotham その他⁵⁾⁶⁾⁷⁾の報告にも見られるように、アレルギーと免疫との関係にふれた研究の殆ど凡てが補体結合反応によるものである。元来補体結合反応は極めて不安定なものである上に、この抗体と結核免疫との間には未だ明かな関係が確立されていないのである。この点に関して大原⁸⁾は、沈降抗体こそ結核の免疫と平行するものであるとして、以後は沈降抗体を免疫の指標として、これとアレルギーとの関係を論じているのである。

他方免疫の問題に関しては、感染動物の臓器の病的変化の大小や、動物の生存日数によつて免疫の度合を知ろうとする試みから、現在では更に接種された結核菌の生死の程を臓器の定量培養によつて明らかにする事により、これを結核免疫の表れと見做そうとする試みが多い。

これらの方法の夫々に関する議論はさておいて、著者はアレルギーの指標としてはツベルクリン反応を、免疫の指標としては菌の定量培養法を選び採り、これと併せて沈降抗体測定を行い、血中抗体の増減をアレルギーと免疫の間に介在させて、両者の関係を考えて見たいと思うのである。

II 実験材料並びに方法

動物：第1, 2報の実験において使用した2.5 kg 前後の白色雄性家兎である。動物を2群に分けて感作及び脱感作群とした。

感作：第1, 2報において述べた通り、流パラ・ラノリンに包埋した $H_{37} R_V$ 加熱死菌 10 mg の 1 cc を、3乃至4回注射及び他の1群では BCG 2 mg 5ヶ所同時皮内注射による感作を行った。

脱感作：旧ツベルクリン (OT) 1000倍液 0.1 cc より初めて次第に高濃度に及び、遂には10倍液 1 cc の注射に至る OT の皮下注射を連日行つて、約150日に及ぶ。この間次に述べるツベルクリン反応及び血液採取の前日及び前々日の2日間は、脱感作の為のツベルクリン注射を中止した。

ツベルクリン反応：OT 10倍液 0.1 cc の皮内注射によつてツベルクリン反応を検定した。注射は腹側皮膚を使用し、毎回のツ反応が新しい場所で行われるように注意した。結果の判定は48時間で行い、発赤左右径の平均が 4 mm 以下を—, 5~10 mm を±, 11~15 mm を+, 16~20 mm を++, 21~25 mm を+++, 26以上を++++と判定してこれに硬結を併記した。硬結の程度はその強さに従つて0度から3度迄區別して、0度のものはこれを記載から除外した。ツベルクリン反応の測定は、感作後3週目、即ち脱感作を初めるに先だつて全動物にこれを行い、以後15日の間隔で定期的に全動物のツ反応を検査した。

沈降抗体： $H_{37} R_V$ の加熱死菌を乾燥し、これにアルコール・エーテル等量混液を加えて充分に脱脂し、溶媒を除去した後、100倍量の蒸溜水で 37°C で1昼夜抽出し、菌体を Seitz で濾過除去した上清を抗原液として使用した。ツベルクリン反応測定と同時に、これに先だつて全動物より約 3 cc 採血し、血清を分離採取して、村田氏沈降試験管によつて沈降反応を検索した。方法は倍数稀釈の抗体価測定法を行い、抗原は10倍液を使用した。血清は非働化する事なく検査したが、非働化したものとの差は約1本の程度である。無処置動物では反応陰性であ

る事を確めた。

III 実験成績

(1) 予備実験

$H_{37} R_V$ 死菌で感作した約15匹の動物を使用して、予備的実験を行つた。そのツベルクリン反応の結果を第1表に表示した。表で明かなよ

第1表 $H_{37} R_V$ 死菌感作後のツベルクリン反応の推移 (1)

前処置	動物番号	1	2	3	4	5	6	沈降抗体価 (反応陽性) (試管数)
脱感作群	41	±I ₀	++I ₁	+++I ₁	++I ₁	++I ₁	++I ₀	5
	42	++I ₁	++I ₂	+++I ₁	++I ₁	++I ₂	++I ₁	6
	43	++I ₂	++I ₁	—I ₀	+I ₀	—I ₀	—I ₀	5
	44	+++I ₂	++I ₂	++I ₁	++I ₁	—I ₀	++I ₀	5
	45	+++I ₁	++I ₂	++I ₁	+I ₀	±I ₀	++I ₀	9
	46	+I ₀	++I ₁	+++I ₂	++I ₁			5
	51	+++I ₂	++I ₁	—I ₀	±I ₀	+I ₀	+I ₀	8
	54	+++I ₁	++I ₁	++I ₁	—I ₀	+I ₀	+I ₀	5
	55	+++I ₂	+++I ₂	++I ₂	++I ₁	++I ₁	—I ₀	7
感作放置群	49	+++I ₁	++I ₂	+++I ₃	++I ₂	++I ₂	++I ₂	4
	52	+++I ₂	+++I ₃	+++I ₃	++I ₂	++I ₂	+++I ₂	4
	53	++I ₁	++I ₂	+++I ₃	+++I ₃	+++I ₂	+++I ₃	5

↑
脱感作群における脱感作開始

うに、感作放置群ではツベルクリン反応は不変か或いは多少とも増強するものの如くであるが、実験期間中多少の動揺をまぬがれなかつた。脱感作群においては、脱感作開始後直ちにツベルクリン反応の減弱を見、全く陰性になるものもあつたが、反対にツベルクリン反応の増強するものや、一旦陰性化した後再び陽性になるものもあつて、大原の云う如き劃一的なツベルクリン反応の陰性転化にいたらしめる事が出来なかつた。これと同時に沈降反応の測定を行つたが、手技の関係もあつて実験早期には、その抗体価の変動が著しく、後期に至つて初めて信頼しうる成績に達したが、例えば第1表に併記した第6回目の成績に見るように、感作群と脱感作群との間に顕著な差異を認めなかつた。しかも尚強いて云えば、感作群よりも脱感作群において多少とも沈降抗体の高い傾向が認められた。

(2) 本実験

$H_{36} R_V$ 死菌で感作した動物約20匹を使用

第2表 H₃₇ R_v 死菌感作後のツベルクリン反応の推移 (2)

前処置	動物番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
脱感作群	20	++I ₁	+++I ₂	+++I ₁	+++I ₁	+++I ₀	++I ₁	++I ₀	+I ₀	+I ₀	
	28	+++I ₁	+++I ₂	+I ₁	++I ₁	+I ₀	++I ₀	+I ₁	±I ₀	+I ₀	
	30	++I ₂	+++I ₂	+I ₁	+++I ₂	±I ₀	+I ₀	++I ₀	±I ₀	+I ₀	
	40	+++I ₃	+++I ₃	+++I ₃	+++I ₃	++I ₁	++I ₁	++I ₁	++I ₂	+I ₀	+I ₁
	44	++I ₂	+++I ₁	++I ₂	+++I ₀	+I ₁	-I ₀	±I ₀			
	61	++I ₀	++I ₁	+I ₀	+++I ₁	±I ₀					
	88	+++I ₀	++I ₂	++I ₁	+++I ₂	+++I ₀	+++I ₁				
	206	+++I ₃	+++I ₁	+I ₀	+++I ₂	++I ₂	±I ₀	+I ₀	-I ₀	++I ₀	+I ₀
	208	+++I ₀	+++I ₂	++I ₀	+++I ₂	+I ₁	++I ₁	++I ₀	-I ₀		
感作放置群	6	++I ₁	+++I ₁	+++I ₁	+++I ₂	+++I ₁	+++I ₂	+++I ₀			
	14	+++I ₂	++I ₃	+++I ₃	+++I ₂	++I ₃	+++I ₃	+++I ₃			
	15	++I ₀	++I ₂	++I ₁	+++I ₃	+++I ₂	+++I ₃	+++I ₃	++I ₂	+++I ₃	
	46	+++I ₂	+++I ₁	+++I ₂	++I ₀						
	79	±I ₀	++I ₀	+++I ₁	+++I ₂	++I ₂	+++I ₁	+++I ₀	+++I ₁	+++I ₁	
	207	++I ₁	+++I ₁	+++I ₁	+++I ₂	+++I ₂	+++I ₂	+++I ₃	+++I ₃	+++I ₃	+++I ₃

↑ 脱感作群における脱感作開始

し、改めて本実験を行つた。ツベルクリン反応の成績は第2表に示す如く、その脱感作群の多くにおいてツベルクリン反応の減弱を齎し得た。然しその減弱の程度は動物による個体差が相当強く、亦時期的に見てツベルクリン反応の強弱に波があつた。結局完全にツベルクリン反応の陰性化を來たし得た例は僅かであり、しかもその陰性も不安定なものと思われた。脱感作に伴うツベルクリン反応の減弱のうち、発赤径の減少よりは硬結の減少がより明らかで、脱感作後期に見られる僅かの然し相当広範囲に及ぶ発赤は、少しも硬結を伴ふもののが多く、発赤径として同じ大きさと表示される反応も、脱感作の前後では反応の質に相当の差異のある事が認められた。感作放置群におけるツベルクリン反応は、何れも最後迄強反応を呈し、感作後150日目の成績でも、残存した全動物にツベルクリン反応は強陽性で、反応減弱の傾向は認められなかつた。

測定した沈降抗体価の成績は、第3表及び第1, 2図に記載した。

脱感作群における沈降抗体も、感作放置群における沈降抗体も、脱感作開始直前には4乃至8倍のものが多し。その後経時的に検索した所では、脱感作の開始の時期と共に、脱感作の有

無に拘らず両群共に沈降抗体が増加して、16～64倍に及ぶものが多数である。強いて云えば、脱感作群において多少は抗体価が高かつたが、両群における差異は極めて軽微であり、著者の予期した如き成績は得なかつた。又脱感作開始後約2ヶ月を経過すれば、沈降抗体価は脱感作

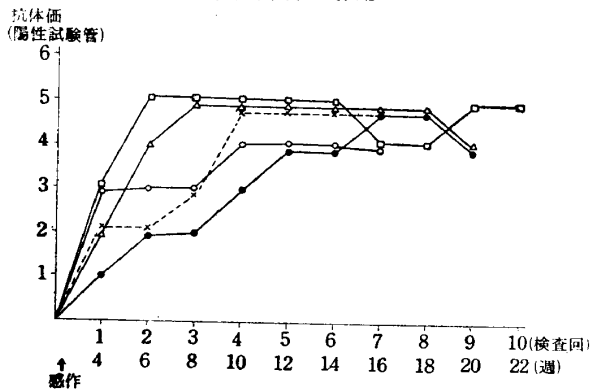
第3表 H₃₇ R_v 死菌感作後の血中沈降抗体の推移

前処置	動物番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
脱感作群	20	2	4	4	4	3	3	2	3	2	
	28	2	3	3	4	1	0	0	0	0	
	30	3	4	5	5	5	5	5	4	3	
	40	3	4	5	5	3	3	3	3	3	3
	44	3	4	4	4	4	3	0			
	61	3	4	5	5	4					
	88	2	4	5	5	4	4				
	206	3	5	5	5	5	5	4	0	3	3
	208	2	5	6	6	5	4	0	0		
感作放置群	6	2	2	3	5	5	5	5			
	14	3	3	3	4	4	4	4			
	15	2	4	5	5	5	5	5	5	4	
	46	2	4	3	4						
	79	1	2	2	3	4	4	5	5	4	
	207	3	5	5	5	5	5	4	4	5	5

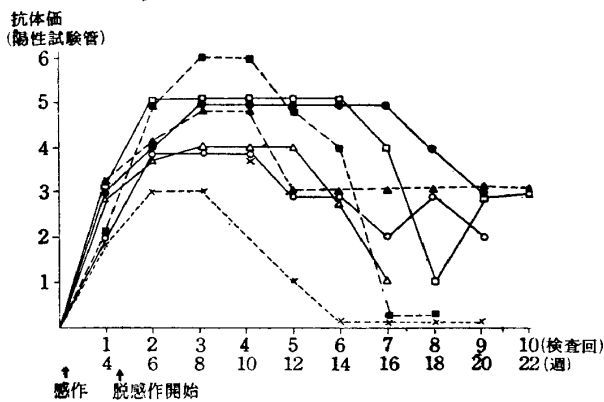
↑ 脱感作群における脱感作開始

(注) 抗体価の成績は陽性試験管の本数で示してある。

第1図 H₃₇ R_V 死菌感作群における
血中沈降体の推移



第2図 ツベルクリン脱感作群における
血中沈降抗体の推移



群において著明に減少し、3乃至4ヶ月の後期においては抗体価は8乃至16倍に低下するものが多く、中には殆ど0に等しくなるものも出現する。これに反し感作放置群における成績は、後期においても尚16乃至32倍の抗体価を維持しており、抗体価に多少の動揺はおこりながらも、比較的高い価を維持するものの様である。

BCGで感作した動物16匹を使用して感作、及び脱感作によるツベルクリン反応の成績を第4表に示した。脱感作前にツベルクリン反応を検査した場合には、明らかな発赤と硬結を示したが、そのまま感作する事なく放置した動物では、日を追って発赤と硬結が増強したのに反し、脱感作した群ではツベルクリン反応は直ちに減弱し初め、1ヶ月後には早くも陰性化するものが現われ、2ヶ月後には陰性或いは弱陽性の程度にツベルクリン反応が減弱した。

この場合にでも、夫々の動物に従つての時間的経過を見れば、脱感作の進行につれて一様にツベルクリン反応が減弱するわけではなく、多

第4表 BCG 感作後のツベルクリン反応の推移

前処置	家畜番号	1	2	3	4	5	6	7
脱感作群	229	+++I ₂	++I ₁	+I ₀	-I ₀	±I ₀		
	230	+++I ₁	++I ₁	+I ₀	++I ₀	-I ₀		
	231	+++I ₁	+I ₀	-I ₀	++I ₀	++I ₀		
	232	+++I ₀	+I ₀	++I ₀	-I ₀	±I ₀	+I ₀	
	234	+++I ₁	++I ₂	+I ₀	++I ₂	+++I ₃	-I ₀	-I ₀
	236	+++I ₁	+I ₁	-I ₀	++I ₀	-I ₀	+I ₀	+I ₀
	237	+++I ₃	+++I ₂	+I ₁	++I ₁	+++I ₁	+I ₀	
	240	+++I ₂	+I ₂	++I ₁	±I ₀	-I ₀	+I ₀	-I ₀
	243	+++I ₁	+I ₀	+I ₀	±I ₀	+I ₀	-I ₀	+I ₀
	247	+++I ₂	++I ₁	+I ₁	+I ₀	-I ₀	±I ₀	-I ₀
感作放置群	249	+++I ₀	+++I ₁	+++I ₂	+++I ₁	+++I ₁	+++I ₃	+++I ₃
	250	+++I ₂	+++I ₃	+++I ₃	+++I ₂	+++I ₃	+++I ₃	+++I ₂
	251	+++I ₁	++I ₂	+++I ₂	+++I ₂	+++I ₁	+++I ₁	+++I ₃
	253	+++I ₁	+++I ₃	+++I ₂	+++I ₃	+++I ₂	+++I ₂	+++I ₀
	254	+I ₀	+++I ₃	++I ₃	+++I ₁			

↑ 脱感作群における脱感作開始

少の動揺を伴うもので、脱感作によるツベルクリン反応の陰性化は何れも完全とは云い難い。然し全体的に見れば、BCG感化群はH₃₇R_V死菌感作の実験群に比し、脱感作によるツベルクリン反応の弱化が比較的容易であるように思われた。以上のツベルクリン反応の実施と同時に沈降抗体の測定も行つたが、反応自体がH₃₇R_V死菌感作群における程著明でなく、従つて脱感作による影響も明らかにする事が出来なかつた。

IV 総括及び考按

今回著者が行つた検索は、脱感作及び感作放置動物におけるツベルクリン反応と血中沈降抗体価との推移である。この時、同時に行つた感作前及び脱感作前の成績が、無処置群及び感作群に相当するわけであるから、これ等4群の成績を前2篇の実験で得た結核菌の所見と結びつけて、結核のアレルギーと免疫との関係を論ずる事が可能となる。これ等の事を一括表示すると、第5表の如くなる。

無処置動物群において単核球への菌の集積を認めたが、この群ではツベルクリン反応も沈降抗体も共に陰性である事は勿論である。感作群においてはツベルクリン反応は強陽性、抗体価

第5表 成績の総括

感作方法	前処置	菌注射前		注射した菌	単核球への菌の集積
		ツ反応	沈降抗体		
H ₃₇ R _V 死菌による	無処置	—	—	鳥型生菌	卅
	感作脱感作感作放置	卅 士 卅	— 十 十 卅		— 卅 十
	無処置	—	—	鳥型死菌	十
BCG 生菌による	無処置	—	—	H ₃₇ R _V 生菌	士
	感作脱感作感作放置	卅 士 卅	—		— — —

は弱陽性であつて、単核球への菌の集積が認められない。無処置群においても菌接種後7日以上を経過すれば、単核球中への菌の集積が見られないが、この時にはツベルクリン反応が弱陽性と転化して、沈降抗体価も亦僅かながら出現し初める事実がある。この事よりすると単核球中への菌の集積が、ツベルクリン反応又は沈降抗体価として測定されるアレルギー反応に何らかの関連を有する事が推察される。脱感作動物では、ツベルクリン反応は完全なる陰性転化とは云えぬ迄も、殆どそれに近い弱化を来したを得たのであるが、沈降抗体価は予期に反してかえつて著明な減少を見た。即ち菌接種直前の脱感作群の状態は、殆ど無処置群に近いものと思われるが、単核球への菌の集積は無処置群より更に顕著なものであつた。感作放置群はツベルクリン反応、沈降抗体価共に高い成績で、しかもこの群においても単核球中への菌の集積が或る程度認められた。ツベルクリン反応の出現と、単核球中への菌の集積の消失とを結びつけようとする考え方は、こゝで多少の抵抗に遭遇する。

脱感作群において沈降抗体価の低下を見た意外な成績は、或る程度迄感作及び脱感作処置に由来するものと思われる。H₃₇ R_V 死菌を流パラ・ラノリンに包埋して、これを抗原として動物を感作する方法は、極めて強力なアレルギー化をおこすもので、そのツベルクリン反応の発現は、生菌感染によるツベルクリン反応を凌駕するものがあり、沈降抗体の発生も比較的強力

なものである。従つてかゝる強力なツベルクリン反応を目標に脱感作を行う時は、極めて長期且大量の抗原による脱感作を行う必要を招来し、かゝる操作が遂には沈降抗体を消耗して部分的な脱感作でなく完全脱感作を起して終うものである。

このような事情を考慮して、BCG による感作と H₃₇ R_V 生菌感染を行つた。この場合には脱感作によるツベルクリン反応の減弱は容易であつたが、沈降抗体価の推移が明かでなかつた。ツベルクリンによる脱感作を行つて BCG 感作動物の沈降抗体の上昇を認め得なかつたこの成績は、大原の報告と全く相異なる。この点に関しては、今後更に検討して報告する予定である。また H₃₇ R_V 生菌感染を行つた動物では単核球中への菌集積を見る事は極めて僅かである。この事は既に安平の報告した如くであり、従つて感作、脱感作、感作放置等の前処置による相異を見る事も出来なかつた。

結核のアレルギーと免疫の問題はまだ多くの謎に包まれていると云つてよい。著者は結核菌を動物の皮下に接種して、接種局所における結核菌の消長を検索し、併せてツベルクリン反応及び血中沈降抗体を測定した。接種局所の結核菌の追求は結核免疫の指標であり、ツベルクリン反応を結核アレルギーの代表と考えて、両者の間に血中抗体を介在させてアレルギーと免疫との関係を明かにしようと企てたものである。動物を予め感作し脱感作する事により沈降抗体量或いはツベルクリン反応の強さを様々に修飾しうが、この手段を利用して、このような条件下に接種された菌の消長に如何なる変化が来ると云う事が、著者の目指す問題であつた。著者の実験では、皮下組織と云うものが結核菌に対して相当強い抵抗性を有するため、加えた条件下においては、接種局所の菌数にそれほど強い変化を与え得なかつた。この意味においては手段を変えて、尚この問題を追求する必要がある。もし結核免疫が、結核の抗原抗体反応と何らかの関連を有するとしたならば、今回著者の得た成績では、血中抗体よりはむしろツベルクリン反応で示される組織抗体の方と深い関連

を有するものと思われる。

V 結 論

(1) 旧ツベルクリンによる脱感作操作によつて、ツベルクリン反応はほぼ陰性に至らしめる事が出来る。

(2) 脱感作操作によつても血中沈降抗体は著明な上昇をおこさせ得ないばかりでなく、強力な脱感作操作により反対に血中沈降抗体は減弱する。

(3) 単核球への菌の集積はツベルクリン反応と或る程度逆の相関をもつが、沈降抗体とそれほど明らかな相関はない。

(4) 以上の事は $H_{37} R_v$ 死菌で感作した動物に鳥型菌を感染させた場合に明かで、BCG で感作して人型菌を感染させた場合には不明瞭であつた。

(附記：研究の指導及び論文校正の労を取られた安平公夫助教授に感謝します)。

参 考 文 献

- 1) 安平公夫：結核のアレルギーと免疫について
考え方，結核の臨床 3 (1), 12 (昭和30)

- 2) 細沼栄一：結核の免疫機作に関する実験的研究，結核 22 (7, 8), 1—20 (1947)
- 3) Rich, A.R. : The Pathogenesis of Tuberculosis, Chales, C. Tnomas. Springfield, Illinois (1944)
- 4) 大原達，中川駿一郎：ツベルクリン反応の検討とその新しい意義，東京医事新誌 68 (12), 5 (昭和26)
- 5) Higginbotham, M. W. : A Study of the Heteroallergic Reactivity of Tuberculin Desensitized Tuberculous Guinea Pigs, Am. J. Hyg., 26 (2), 197 (1938)
- 6) Baker, A.B. : Complement Fixation as Related to Resistance and Allergy in Experimental Tuberculosis, Am. Rev. Tuberc., 31, 54 (1935)
- 7) Clawson, B.J. : The Relation of Antibody Content to Allergy and Resistance in Animals Vaccinated with BCG, J. Bact., 29, 32 (1935)
- 8) 大原達，中川駿一郎，池端降：結核における脱感作の研究——とくに結核アレルギーと免疫の問題に関連して——，アレルギー 1 (1), 29 (昭和27)