

感作家兎肺滲出細胞抽出液中の抗結核菌 性物質リゾチームに関する研究

京都大学結核研究所病態生理学部（主任教授 辻 周 介）

大 島 駿 作

米国バージニア大学微生物学教室（Chairman: A. E. Feller）

Quentin N. Myrvik

Eva Soto-Leake

緒 言

結核感染に対する動物の獲得性抵抗力に就ては特異的抗体の示す抗菌性物質としての役割は直接には殆んど認められていない。

一方自然抵抗力という立場から、自然界、特に健康動物の体内に自然に存在する抗結核菌性物質に就て研究を行い、その本体を探究し、或る物質に就ては純粋に分離抽出して、その化学構造に就て迄研究を行つたという報告が若干ある。

Dubos は Hirsch¹⁾²⁾ と共同してモルモットの腎臓から抽出した“Spermine 及 Spermidin”という抗結核菌性物質に就て研究を行つた。この物質は、BCG の様な弱毒結核菌に対して10万倍稀釈という低濃度で、その発育を抑制した。続いて Dubos は Hirsch³⁾⁴⁾⁵⁾ と共に仔牛の胸腺より“Thymus Peptide”を分離し、その化学的組成に関する研究を行つた結果、これはBCGに対しては30γ/cc、人型結核菌H37Rvに対しては300γ/ccで、それらの菌の発育を抑制する塩基性ペプチドでPH10~11に等電点を持ち、lysine と Arginine を多量に含んでいるという成績を得た。

この物質は仔牛の胸腺のみならず、仔牛の脾臓、脾臓及びリンパ腺からも羊の胸腺からも証明された。

Jollés G., Jollés P.^{6)~9)} 及びその共同研究者達は健康家兎の脾臓よりカラムクロマトグラフ

イーによつて、リゾチームの分離に成功し、これを結晶として取出し、その化学構造に就て研究を行つた。

Patnode¹¹⁾ は兎の肺臓より抽出したアセトン可溶性分劃中、脂肪酸と推定される物質が *in vitro* で結核菌発育抑制効果を示すことを報告した。これは牛型結核菌よりも人型結核菌に対して強い発育抑制作用を示した。

Björnesjö^{12)~16)} は健康人尿中に認められる結核菌発育抑制因子の本体に就て研究を行い、その活性物質は結核患者の尿中で増量しないこと及びその性質は揮発性でなく、セロファン膜を容易に透過し、電気透析により陽極側に移動し、エタノールを除く総ての有機溶媒に不溶性で、pH 酸性側で著しい活性を示し、活性炭に吸着され得ることを証明したが、その物質が如何なるものかという決定は出来なかつた。

彼¹⁷⁾は更に牛の肝臓、脾臓、腎臓、肺臓及び筋肉の抽出液中に健康人尿中に認められたと同様の抗結核菌性物質が存在していることを報告した。

Myrvik と Weiser¹⁸⁾は先に Björnesjö の研究した健康人尿中の抗結核菌性物質はアスコルビン酸の誘導体であると報告したが、この実験成績は不充分であるとして Björnesjö は Myrvik と Weiserの説に反対している。

大島¹⁹⁾²⁰⁾はこの健康人尿中の抗結核菌性物質に就て更に検討を加え、この中より強力な抗菌性物質として有機酸及びポリペプチドの2種

類の物質をイオン交換樹脂のカラムを系統的に使用することにより分離，抽出に成功した。

続いて藤田¹⁹⁾²¹⁾は健康牛血清及家兎血清より同様の方法，即ちイオン交換樹脂カラムの組合せによつて著明な結核菌発育抑制力を持つ有機酸及ペプチドの分離抽出に成功した。

同じ頃中島¹⁹⁾²²⁾も健康家兎の肝臓，腎臓，肺臓及び脳の抽出液より同様の方法で抗結核菌性ペプチド及び有機酸の分離抽出に成功した。

Franc²³⁾は牛乳中の抗結核菌性物質に就て研究を行い，クロロフォルム及重曹水溶液に溶けるがベンゼンには溶けない脂肪酸がその本体であると報告した。この物質は 1mg/cc 以上の濃度で人型結核菌 H37Rv に対して，発育抑制効果を示すが BCG., *M. phlei* 及 *M. smegmatis* に対しては著明な発育抑制効果を示さなかつた。

Myrvik と Soto-Figueroa²⁴⁾は牛の脾臓より分離した結核菌発育抑制力を有する蛋白について報告した。この蛋白は *in vitro* の実験で毒力結核菌に対して特に著しい発育抑制効果を示し，pH 7.3 に於て 39~78 γ /cc で人型結核菌 H 37 Rv の発育を完全に阻止した。等電点は，4.8 で加水分解の結果グルタミン酸，チスチン，ロイシン及びアラニンの存在が証明された。

以上の如く多数の抗結核菌性物質が生体より分離抽出されたが，これらは健康動物の体液或は臓器より取出されたものであるため，主として結核感染に対する自然抵抗力という立場から研究された。結核菌により動物を感作することによつてこれらの物質が体内で増加するか否かに就ては，若干の物質では実験により検討されてはいるが，その実験成績はほぼ否定的な結果に終っている様である。

リゾチームは Fleming²⁵⁾によつて発見され，特定の細菌に対し *in vitro* で発育抑制力，殺菌力及び溶菌力を有する抗生物質として注目を浴びた。

Myrvik と Weiser²⁶⁾は実験結核家兎の血清中に著明なリゾチームの増加が認められたと報告した。彼等は更に結核菌により感作された家兎血清の結核菌発育抑制力は正常血清のそれに比べて著明に増進し，その発育抑制力の増加は血

清中のリゾチームの増量とほぼ平行していることを証明した。

一方精製された卵白リゾチームも *in vitro* で強い結核菌発育抑制作用を示し，その抗菌スペクトル，透析性，熱に対する安定性，塩類による活性の減少などの比較実験に於て示された両者の態度の相似性から感作后動物の血清中に増加する抗菌因子の本体としてリゾチームを推定した。

Ridley²⁷⁾は人体内に於けるリゾチームの分布に就て研究を行つた。それによれば，涙，多核白血球，喀痰及び鼻汁に極めて多量のリゾチームが含有されている。

Florey²⁸⁾は兎及び人間の各種臓器及び組織に就て同様の研究を行い特に脾臓，腎臓，肺臓及び唾液腺に多量のリゾチームが存在することを証明した。

Myrvik は卵白リゾチームが *in vitro* で 4~8 γ /cc の濃度で BCG の発育を完全に抑制することを証明した。又彼は後述する様に大量の BCG 死菌を Freund の Adjuvant と共に健康家兎に注射し，その後 Challenge を行うことにより血中のリゾチーム量が 10~20 γ /cc に達し，同時にその結核菌発育抑制力も増大するという成績を得た。著者達は1959年9月より1960年8月迄米国バージニア大学の微生物学教室に於て共に実験を行う機会を得て，結核感染に対する獲得性抵抗力の研究という立場から感作家兎肺臓抽出液中の抗結核菌性因子に関する研究を行つたので以下に述べる。

実験材料及び実験方法

感 作 方 法

ニュージーランド株の健康家兎（体重 1.8~2.2kg）を使用して実験を行つた。1cc の Freund の Adjuvant²⁹⁾ に BCG 加熱死菌 25mg（乾燥重量）を含む様に作製した菌浮游液を各家兎の左右大腿皮下に各 1cc ずつ（計 2cc 即ち菌量 50mg）注射した。約 3~4 週後 BCG 死菌 5mg を生理的食塩水 1cc に浮游させて耳静脈より静脈注射を行つた。これを“Challenge”と呼ぶことにする。Challenge 後 4 日目に屠殺した家兎の肺臓は著明に肥大し，所謂肉芽腫様肺の状態となつた。（写真 1, 2）

肺臓抽出液の作製

屠殺した家兎の胸郭を切開して肺臓を周囲の組織から剥離して取出した後、ピンセットを用いて気管、胸壁、肋膜、結締組織などを出来るだけ除去した。肺臓の重量を測定した後2倍量の蒸留水を加えてホモジナイザーにかけ、2分間にわたって組織を粉碎した。粉碎した組織液は塩酸を用いて pH 3 に修正し 4°C, 24時間放置した。その後苛性ソーダにより再び pH 7.0 に修正した。組織液を3000回転、20分間遠心沈澱し上清を分離した。褐色の上清をザイツ汙過器で滅菌し—10°C で保存した。

肺胞細胞抽出液の作製

家兎を屠殺し、胸郭を切開した後、気管を分岐部上方2乃至3cmの場所に於て鉗子で挟み、その上方で切断した。次に肺臓を傷つけない様に注意しつつ、周囲の組織から剥離して取出した。肺臓に付着した余分の組織を出来るだけ剥離した後、生理的食塩水にて充分洗滌した。気管の断端から鉗子を外して写真3の如く架台に懸垂した。

Hanks 液を用い、注射器より気管を通じて肺内に液を注入した。この際極めて徐々に注入し、液の気管枝内への流入を円滑にするため肺を外側より指で揉む必要があつた。

10~20cc の Hanks 液を注入した後鉗子で軽く気管断端を閉じ、肺を外側より指で揉み肺胞内の細胞の游出を図つた。この後肺及び気管を逆に下に向けて肺内の液をスピッツグラスに流し出した。これを繰返して洗滌液約 150cc をスピッツグラスに集めた後、1000回転、20分間遠心沈澱した。上清を捨て、沈澱を少量の生理的食塩水に浮遊させて一本の目盛付スピッツグラス（容量 10cc）に集めた。

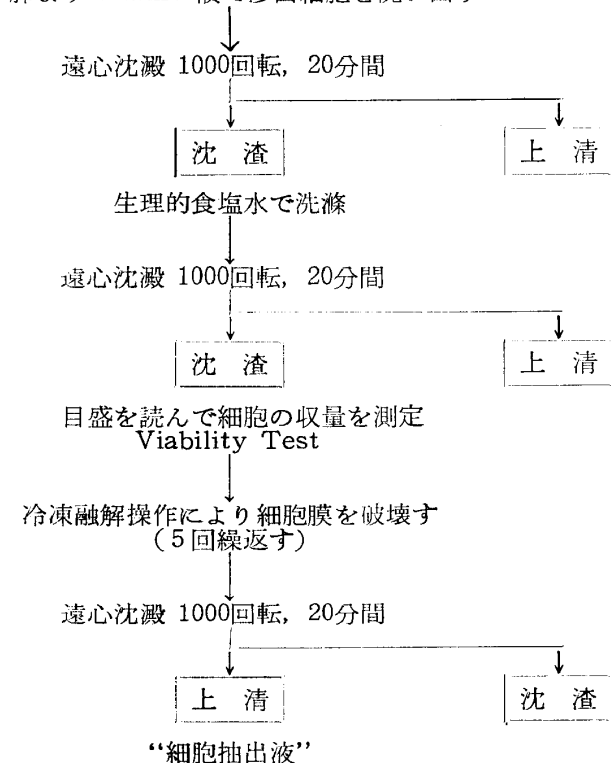
生理的食塩水を10の目盛迄加えて毛細管ピペットを用いて良く洗滌した後、再び1000回転20分間遠心沈澱した。目盛によつて管内の沈澱の量を測定した（“Packed cell” の量）。

9 倍量の生理的食塩水を加え充分攪拌して“10倍稀釈浮游液”を作成した。

冷凍融解操作を5回反復し、細胞膜を完全に破壊した後、1000回転20分間遠心沈澱した。この上清を“肺胞細胞抽出液”と称した。この抽出液作成の過程を第1表に示しておく。感作後 Challenge を行つた家兎の肺臓より細胞を採集した後、抽出液を作製した。同様操作により対照として正常家兎肺胞細胞抽出液も作製した。

第1表 肺滲出細胞抽出液の作成方法

肺より Hanks 液で滲出細胞を洗い出す



抗 菌 試 験

Casein hydrolysate, CuSO_4 , ZnSO_4 及び Ca-Cl_2 を省いた Middlebrook-Dubos⁸¹⁾ 変法培地を使用した。

牛血清 アルブミン（第5分割, Pentex 社製）を 0.5% の割合で培地に加えた。試験材料を倍数稀釈し、各 0.5cc の試料に等量の培地を加えたので Tween 80 の終末濃度は 0.02% となつた。Proskauer-Beck 培地に培養された, Mycobacterium phlei 及 BCG を試験菌として使用した。

菌を乳鉢で磨砕した後 Dubos 変法基礎培地に浮游し、軽く遠心沈澱を行つて菌塊を除き Coleman (Model 9) の比濁計で 250 単位になる迄稀釈した。この菌浮游液を標準毛細管ピペットを用いて 1 滴ずつ（約 0.02cc）各試験管に加えた。

抗菌試験の結果は 37°C のフラン器中で培養した後、M. phlei の場合 2~4 日目、BCG の場合 4~6 日目に判定した。

カラムクロマトグラフィー

Cellex-CM 陽イオン交換性セルローズ粉末のカラムを使用した。通常 5g のセルローズ粉末で作成したカラム（2×9cm）は肺胞細胞抽出液 130cc 中に含まれる結核菌発育抑制因子を完全に吸着し得た。

セルローズ粉末を 0.01M の食塩水溶液 pH 8.0 で洗滌液が透明となるまで洗滌した後カラムに充填し

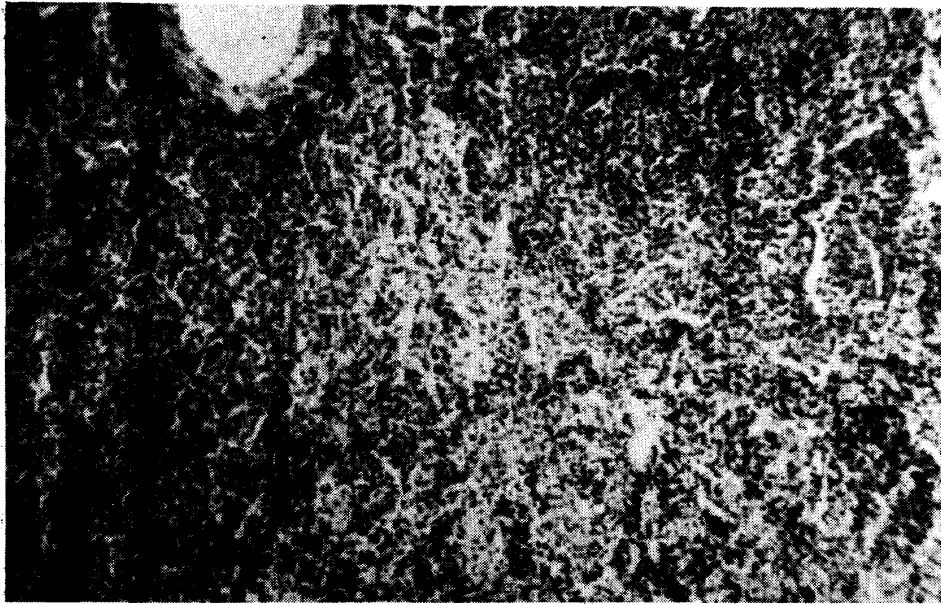


写真1 感作後 Challenge
を受けた家兎肺臓（弱拡大）

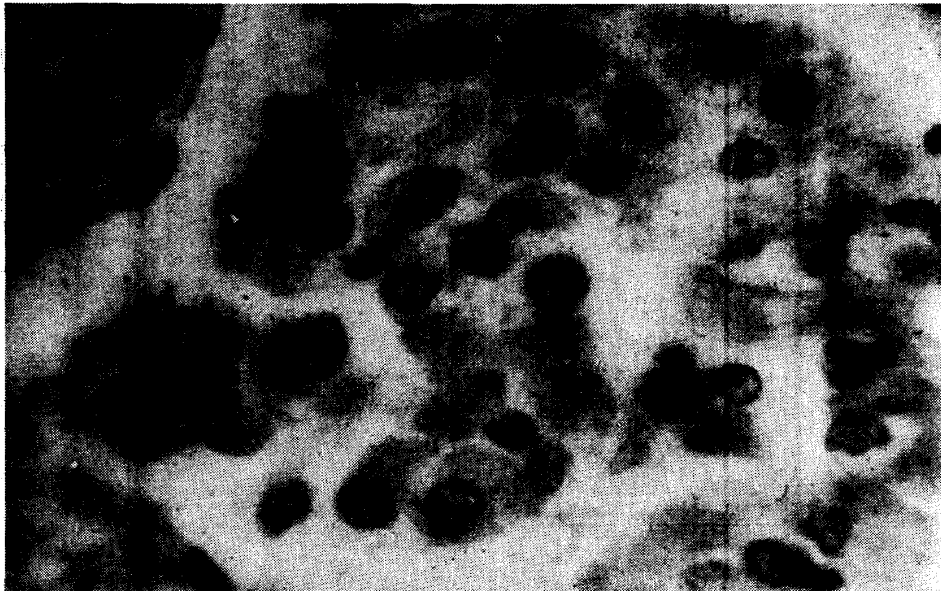


写真2 同 上
（強拡大，油浸）



写真3 細胞採集の手技

た。カラムに充填したセルローズ粉末を更に 0.01M の食塩水溶液 100cc を用いて洗滌した。

出来上つたカラムに 130cc の細胞抽出液を吸着させた後再び 0.01M の食塩水を用いて洗滌液の蛋白濃度が 50 γ /cc 以下になるまで洗滌した。この操作に要した食塩水の量は通常 350~400cc であつた。

第1図に示す如く、McGilvery³²⁾の考案になる、“Double Mixing Flask”装置を組立てた。図に示す如く2つの攪拌フラスコは1.0Mの食塩水を入れた貯溜槽に連絡し、第一攪拌フラスコには実験開始時に0.31Mの食塩水540ccを満した。この状態で全回路を開くと右端のカラムを通過する食塩水中の食塩濃度は0.01Mを起点として、通過する液量に比例して直線的に上昇して行くこととなる。従つて実験により得られた蛋白分布曲線上の任意の点に於て、起点よりの食塩水の流出量を知れば、その点の食塩濃度が計算出来た。

カラムからの溶出液を10~15ccずつフラクションコレクターを用いて試験管に集めた。

蛋白濃度の測定

フラクションコレクターにより集めた各試験管中の

試料について蛋白濃度を決定するため、Lowry³³⁾のFolin Ciocalteu 試薬による方法及びOchoa³⁴⁾の記載した分光光度計による方法の両者を応用した。

リゾチームの定量法

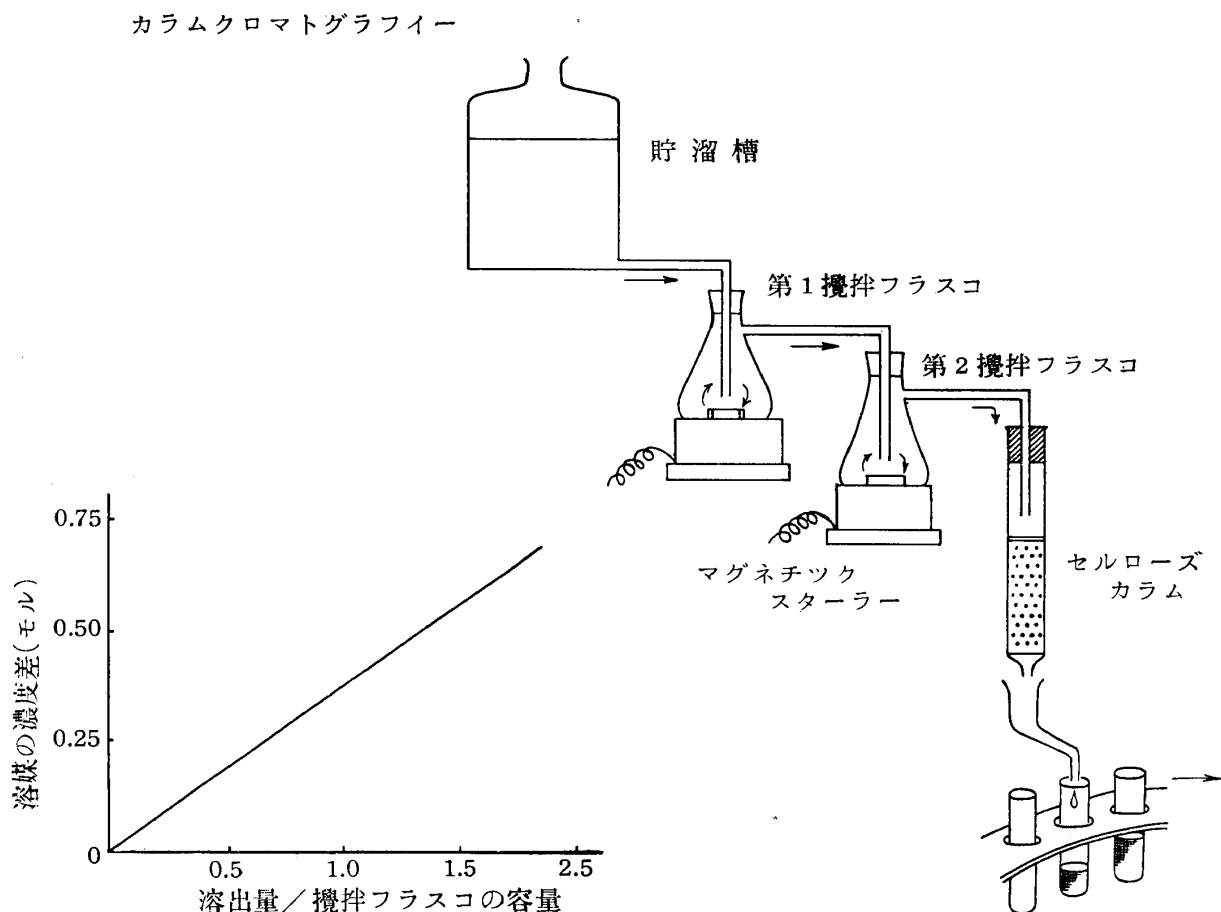
普通寒天斜面培地に培養された *Sartina lutea* の24時間培養菌を M/60 の磷酸緩衝液 (pH 6.5) を含む生理的食塩水で洗い、菌浮游液を作成した。菌浮游液の濃度を Coleman 比濁計で約250単位の濁度に調整した。この若い菌の浮游液は実験の度毎に新たに作製した。未知の試料を各種の濃度に稀釈して、その後1ccをとり、*S. lutea* の浮游液を各5cc宛加えた。この混合液を37°Cで60分間恒温水中に入れた後、比濁計により比濁した。

卵白リゾチーム (Pentex 製) による対照曲線と比較して試料中のリゾチームの定量を行い、この成績を mg/cc の単位で記録した。

実験結果

肺臓抽出液による結核菌発育抑制実験

BCG 死菌と Freund の Adjuvant を用いて感作した後、BCG 死菌を静脈注射する Challenge



第2表 肺臓抽出液による抗菌試験の成績

家 兎 群			稀 釈 度		1:48	1:96	1:192	1:384	1:768	1:1536	1:3072
菌 株											
感 作 群	Challenge (+)	BCG	—	—	—	—	±	++	++		
		M. phlei	—	—	—	—	—	—	++		
	Challenge (—)	BCG	—	±	++	++	++	++			
		M. phlei	—	—	—	—	+	++			
Challenge のみ		BCG	—	—	±	++	++	++			
		M. phlei	—	—	—	+	++	++			
正 常			BCG	±	++	++	++	++	++	++	
			M. phlei	—	—	—	—	++	++	++	

M. phlei は2日間培養, 対照: ++.

B C G は4日間培養, 対照: ++.

Middlebrook-Dubos 変法培地

++ 非常に良好な発育 + 良好な発育 ± 微弱な発育 — 発育を認めず

を行つた家兎の肺臓抽出液に就て, BCG 及び M. phlei に対する抗菌試験を行つた。対照として正常家兎肺臓抽出液, 感作のみ行つて Challenge を行わなかつた家兎肺臓抽出液及び感作を行わず Challenge のみ行つた家兎肺臓抽出液に就ても同様に抗菌試験を行つた。

その実験の成績を第2表に示した。表に示す如く, 感作後 Challenge を行つた家兎肺臓抽出液は BCG を384倍稀釈, M. phlei を1536倍稀釈という低濃度で発育を阻止した。この発育抑制効果は他の3群と比較して最も強力であり, 正常群と比較して BCG の場合16倍, M. phlei の場合4倍という強力なものであつた。又総ての群に於て実験成績の示す如く, M. phlei は BCG に比べてこの抽出液の有する抗菌因子に対して低濃度でその発育を阻止された。

第3表にはこれら4群の肺臓の重量と, その抽出液中に証明されたリゾチームの量を示すものである。感作後 Challenge を行つた群の肺臓

が正常群の肺臓と比較して著明に肥大していることは, 表に示された肺重量: 体重の比によつて明らかである。又抽出液中のリゾチーム量も感作後 Challenge を行つた群が他の3群に比べて著明に増量していた。

肺胞滲出細胞の収量及び抽出液による結核菌発育抑制実験

第4表に示す如く感作後 Challenge を行つた家兎の肺臓よりは多量の肺細胞を採集することが出来た。この細胞は主として単核球で, 写真4に示す如く大型の細胞体と比較的小さな核を有し, 活発な噴噴能を認めた。写真5は対照として正常家兎の肺より採集した細胞である。第4表に示す如く, 収量は極めて僅かであつた。感作のみ行つて Challenge を行わなかつた群, 感作を行わず Challenge のみ行つた群では細胞の収量は正常群の場合の収量よりやや増加の傾向が認められたが, 感作及び Challenge を併せ

第3表 各家兎群の肺臓抽出液中のリゾチーム量

	リゾチーム量 (γ/gr)	$R = \frac{\text{肺重量}}{\text{体重}}$
感作後 Challenge を行つた群	1350—1450	1.6×10^{-2}
感作のみ行つた群	450	0.5×10^{-2}
Challenge のみ行つた群	480	0.5×10^{-2}
正 常 群	240—250	0.4×10^{-2}

第4表 各家兎群の肺の重量と肺滲出細胞の収量

	$R = \frac{\text{肺重量}}{\text{体重}}$	滲出細胞の収量 (cc)
感作後 Challenge を行つた群	1.6×10^{-2}	3.0—6.0
感作のみ行つた群	0.5×10^{-2}	0.2—0.7
Challenge のみ行つた群	0.5×10^{-2}	0.2—0.3
正 常 群	0.4×10^{-2}	0.1—0.2

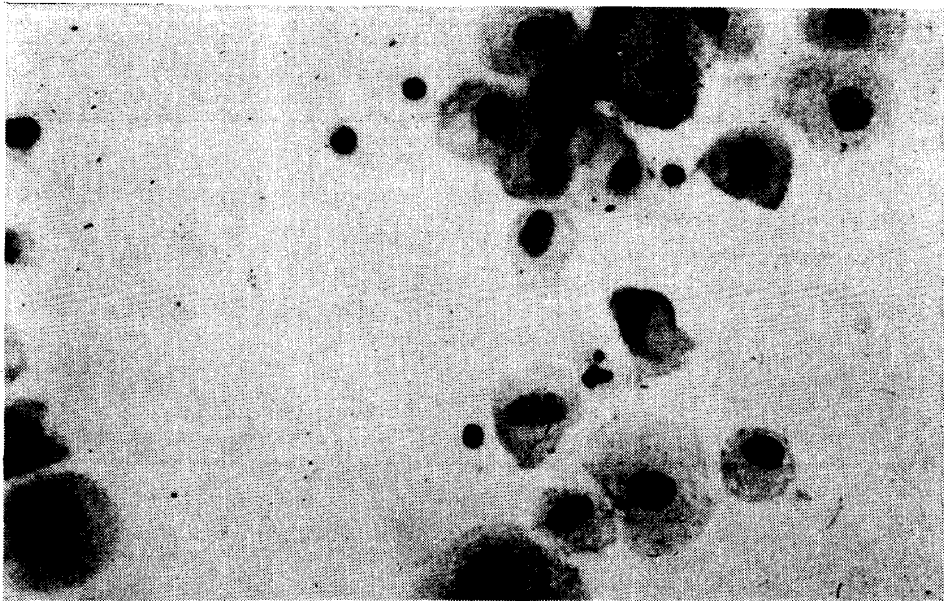


写真4 感作後 Challenge
を受けた家兎肺臓より採
集された細胞

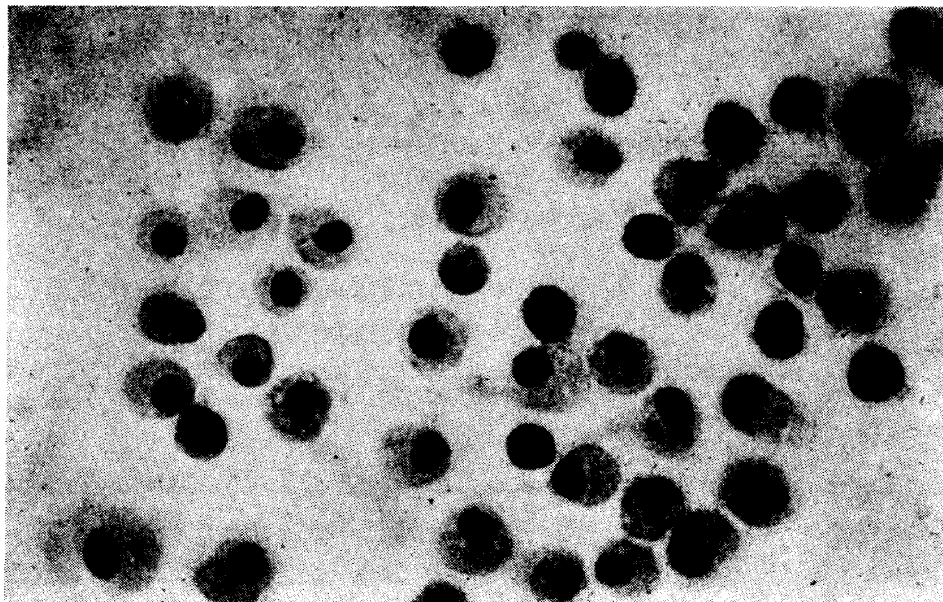


写真5 正常家兎肺臓より
採集された細胞

行つた群に比べると収量は著しく少量であつた。

感作後 Challenge を行つた家兎の肺胞より採集した細胞を材料として作製した細胞抽出液に就て、肺臓抽出液の場合と同様の方法で、BCG 及び *M. phlei* に対する発育抑制実験を行つた。即ち第5表に示す如く、感作後、Challenge を行つた家兎肺胞滲出細胞抽出液は BCG を 320 倍稀釈、*M. phlei* を 640 倍稀釈で完全に発育阻止した。一方対照として行つた正常家兎肺臓抽出液に於ても BCG 及び *M. phlei* を感作家兎肺胞滲出細胞抽出液に於けると同一の濃度でそれらの菌発育を阻止した。即ち肺臓抽出液

の場合と異り、細胞抽出液の場合は、正常家兎に於ても感作家兎に於てもそれらの結核菌発育抑制力には殆んど相違は認められなかつた。

肺胞細胞抽出液中のリゾチーム量に就ても感作家兎と正常家兎との間に著しい差が無かつた。

カラムクロマトグラフィーによる 実験成績

感作後 Challenge を行つた家兎の肺胞滲出細胞抽出液に就て Cellex-CM セルローズ粉末を用いてカラムクロマトグラフィーを行つた実験成績を第2図に示す。

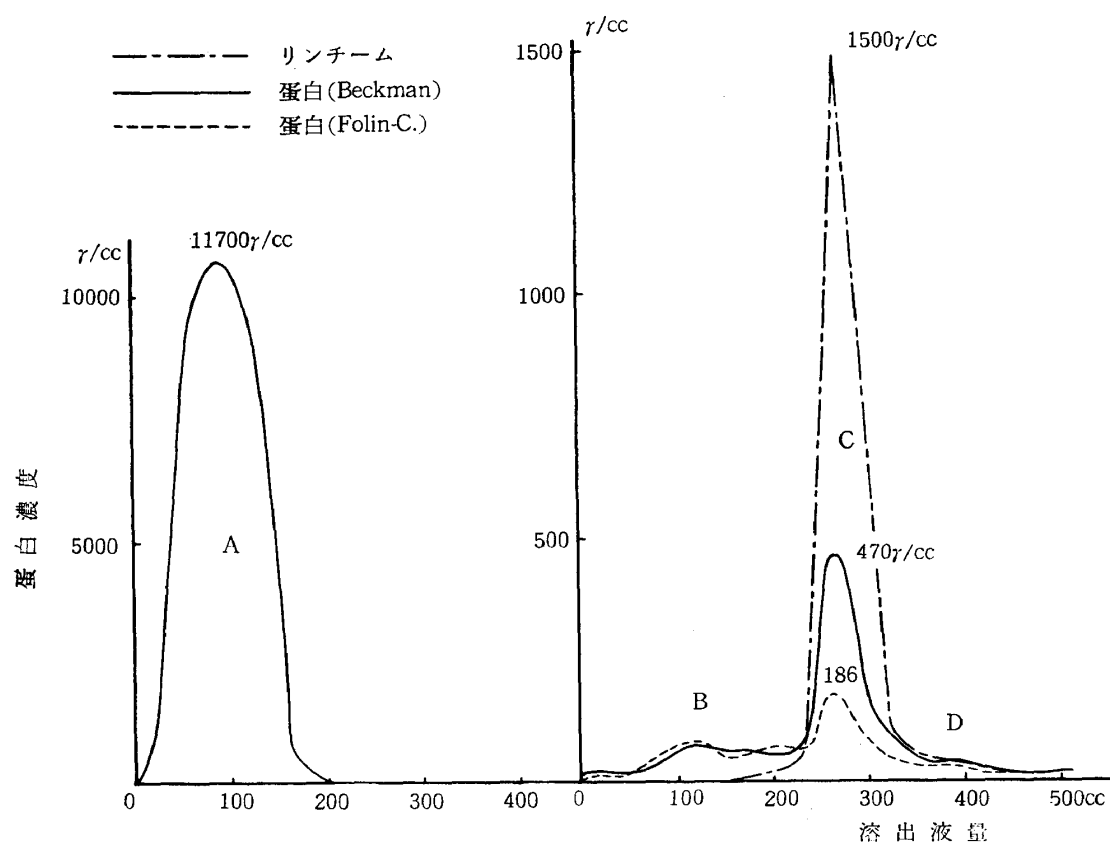
第 5 表 家兎の肺滲出細胞抽出液の抗菌力

家 兎 群	菌 株	抽 出 液 の 稀 釈 倍 数						リゾチーム量 (γ /cc)
		1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	
感作後 Challenge を行った群	M. phlei	—	—	—	—	±	+	2000~5000
	B C G	—	—	—	±	+	+	
正 常 群	M. phlei	—	—	—	—	+	+	2000~4000
	B C G	—	—	—	±	+	+	

M. phlei; 2日間培養, 対照; +

B C G; 4日間培養, 対照; +

Middlebrook-Dubos 変法培地



第 2 図 肺胞滲出細胞抽出液のカラムクロマトグラフィー

材料: 蛋白濃度 14.9mg/cc; 130cc

Cellex-CM 陽イオン交換セルローズ粉末 5g.

図に示す如く細胞抽出液を4つの蛋白分割, 即ち, A, B, C 及び D に分割した。

第1の分割Aは試料をカラムに吸着させた時, 吸着されずカラムを通過してしまつた蛋白分割である。その蛋白量から細胞抽出液に含まれる大部分の蛋白はこの分割に属することが判明した。第2の分割Bは溶媒の食塩濃度0.01~0.16Mに於て溶出された蛋白分割で, 若干の小さな蛋白のピークを含んでいた。第3の蛋白分

割Cは0.18Mを中心とする著明なピークを含む分割で, 著明なリゾチーム活性を認め, 蛋白曲線のピークとリゾチーム活性曲線のピークは正確に一致していた。

第4の分割Dは分割Cの後に続く部分である。

分割Cが著しいリゾチーム活性を示したに反して, A, B 及び D の何れの分割にも全くリゾチーム活性は認められなかつた。

第6表 感作後 Challenge を行つた家兎肺滲出細胞抽出液各分割の抗菌力

菌株 稀釈 倍数 分割	B C G					菌株 稀釈 倍数 分割	M. phlei						
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32		1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
A	+	+	+	+	+	A	+	+	+	+	+	+	+
B	+	+	+	+	+	B	+	+	+	+	+	+	+
C	—	—	—	±	+	C	—	—	—	—	—	—	+
D	+	+	+	+	+	D	+	+	+	+	+	+	+

Middlebrook-Dubos 変法培地

M. phlei, 2日間培養, 対照: +.

B C G, 4日間培養, 対照: +.

第6表は多数の試験管に就て行つた抗菌試験の成績を総括したものである。分割A, B及びDにはBCG及びM. phleiの両者に対し全く抗菌作用を認めなかつたのに反して, 分割Cには著明な抗菌作用を認めた。分割Cの抗菌作用は, 上述の細胞抽出液の場合と同様, BCGよりもM. phleiに対して低い稀釈濃度で発育阻止した。

考按並びに総括

結核菌により感作された動物に結核死菌をもつてChallengeを加えることにより, 肺胞内に多数の単核細胞が滲出して肉芽腫様肺の状態となつた。この様な変化を起した肺臓から作製した抽出液は *in vitro* の実験で著明な結核菌発育抑制作用を示した。一方正常家兎肺臓抽出液の抗菌作用は微弱であつた。

病理組織学的検索の結果, 感作後 Challengeを行つた家兎の肺臓では, 正常肺に見られない多数の単核細胞の滲出と, 肺胞隔壁の肥厚が認められ, これが感作家兎の肺の重量を正常家兎肺の重量の約4倍にも増加させた原因と推定された。

肺胞内の細胞を生きたまま生体外に洗い出す新しい方法を考案し, その結果感作後 Challengeを行つた家兎の肺臓より多量の単核細胞を採集することが出来た。この細胞より作製した抽出液は著明な結核菌発育抑制作用を有し, 又多量のリゾチームを含有していた。一方, 正常家兎の肺臓より採集し得た細胞の量は極めて僅少であつた。ここに於て, 感作後 Challengeを行つた家兎の肺臓抽出液に認めた著明な抗菌作用増

加の原因は, その肺胞を埋めていた多数の単核細胞に在つたと推定することが出来た。

陽イオン交換性セルローズ粉末を用いて行つたカラムクロマトグラフィーの結果, 分割Cに著明な抗菌力を認め且つ蛋白曲線のピークとリゾチーム活性のピークが正確に抗菌活性のピークと一致した。一方他の蛋白分割にはリゾチーム活性及び抗菌活性の何れをも認めなかつた。この事実は肺胞内細胞に含有されるリゾチームが, その結核菌発育抑制因子の本体であることを強く裏書きするものと思われる。

結核感染に対する動物の防衛機構に関しては未だ多くの問題が未知のまま残されている。辻及び共同研究者達⁸⁵⁾⁸⁶⁾¹⁹⁾は動物体液中に存在する抗結核菌性物質に関する系統的研究を行い, 新しく考案したChamber法やRing法によつて結核菌により感作された動物の体液内に抗結核菌性因子の出現することを知り, その本体と思われる抗結核菌性物質の分離に成功した。

一方細胞内に含有される抗結核菌性因子に関する研究は, 従来主として生きた細胞内での結核菌培養実験によつて行われて来た。即ち, Lurie⁸⁷⁾は単球が結核菌を喰喰するという事実に着目して家兎の前眼房内で結核菌を喰喰した単球を培養するという新しい手技を考案し, 免疫家兎の単球内では正常家兎の単球内に比べて結核菌の発育が抑制されることを報告した。Suter⁸⁸⁾はモルモット及び家兎の単球を生体外に取出して細胞内に喰喰させた結核菌の培養に成功したが, 免疫動物から得た単球内では結核菌の発育が抑制されるという実験成績を得た。

Mackanness³⁹⁾ は結核菌感作家兎の単球内に於ても、正常家兎の単球内に於ても同様に結核菌が発育し得るという Suter とは異つた実験成績を報告した。

何れにせよ従来この様な方法によつて研究されて来た細胞内に存在する抗菌性因子に就て、我々は先に述べた様に細胞抽出液を作成し、新しい工夫を加えて研究を行つた。その実験成績の示す如く感作家兎肺胞滲出細胞内に存在する抗結核菌性因子の主体がリゾチームであることを証明したことは今後のこの方面の研究にとつて意義深いことと考える。

参 考 文 献

- 1) Dubos, R. J.: Am. Rev. Tuberc., **63**, 119 (1951).
- 2) Hirsch, J. G., Dubos, R. J.: J. Exp. Med., **95**, 191 (1952).
- 3) Dubos, R. J., Hirsch, J. G.: J. Exp. Med., **99**, 55 (1954).
- 4) Hirsch, J. G., Dubos, R. J.: J. Exp. Med., **99**, 65 (1954).
- 5) Hirsch, J. G.: J. Exp. Med., **99**, 79 (1954).
- 6) Jollès, G., Fromageot, C.: Biochem. et Biophys. Acta, **11**, 95 (1953).
- 7) Jollès, G., Fromageot, C.: Biochem. et Biophys. Acta, **14**, 219 (1954).
- 8) Jollès, P., Fromageot, C.: Biochem. et Biophys. Acta, **14**, 228 (1954).
- 9) Jollès, P., Ledieu, M.: Biochem. et Biophys. Acta, **31**, 100 (1959).
- 10) Jollès, P., Ledieu, M.: Biochem. et Biophys. Acta, **36**, 284 (1959).
- 11) Patnode, R. A.: Am. Rev. Tuberc., **69**, 710 (1954).
- 12) Björnesjö, K. B.: Acta Tuberc. Scand., **25**, 425 (1951).
- 13) Björnesjö, K. B.: Acta Tuberc. Scand., **25**, 447 (1951).
- 14) Björnesjö, K. B.: Acta Tuberc. Scand., **25**, 457 (1951).
- 15) Björnesjö, K. B.: Acta Tuberc. Scand., **27**, 116 (1952).
- 16) Björnesjö, K. B.: Acta Tuberc. Scand., **27**, 123 (1952).
- 17) Björnesjö, K. B.: Acta Tuberc. Scand., **27**, 134 (1952).
- 18) Myrvik, Q. N., Weiser, R. S.: Am. Rev. Tuberc., **69**, 406 (1954).
- 19) Oshima, S., Fujita, Y., Takeoka, A., Nakajima, M., Tsuji, S.: Am. Rev. Tuberc., **78**, 884 (1958).
- 20) 大島駿作: 京大結研紀要, **7**, 75 (昭34年).
- 21) 藤田豊: 京大結研紀要, **7**, 7 (昭34年).
- 22) Nakashima, M.: Acta Tuberc. Jap., **9**, 36 (1959).
- 23) Franc, Z.: Nature, **182**, 884 (1958).
- 24) Myrvik, Q. N., Soto-Figueroa, E.: Am. Rev. Tuberc., **78**, 93 (1958).
- 25) Fleming, A.: Proc. Roy. Soc., London, **93B**, 306 (1922).
- 26) Myrvik, Q. N., Weiser, R. S.: Am. Rev. Tuberc., **64**, 669 (1951).
- 27) Ridley, R.: Proc. Roy. Soc. Med., **21**, 1495 (1928).
- 28) Florey, H.: Brit. J. Exp. Path., **11**, 251 (1930).
- 29) Freund, J., Bonato, M. V.: J. Immunol. **48**, 325 (1946).
- 30) Myrvik, Q. N., Soto-Leake, E., Oshima, S.: Brit. J. Exp. Path. (印刷中).
- 31) Dubos, R. J., Middlebrook, G.: Am. Rev. Tuberc., **56**, 334 (1947).
- 32) McGilvery, R. W.: Anal. Biochem. (印刷中).
- 33) Lowry, O. R., Rosebrugh, N. J., Farr, A. L., Randall, R. V.: J. Biol. Chem., **193**, 265 (1951).
- 34) Ochoa, S.: "Methode in Enzymology", **I**, 740 (1955). Academic Press Inc, (New York).
- 35) Tsuji, S., Ito, K., Oshima, S.: Am. Rev. Tuberc., **76**, 90 (1957).
- 36) Tsuji, S., Oshima, S., Takeoka, A.: Am. Rev. Tuberc., **77**, 524 (1958).
- 37) Lurie, M. B.: J. Exp. Med., **75**, 247 (1942).
- 38) Suter, E.: J. Exp. Med., **97**, 235 (1953).
- 39) Mackanness, G. B.: Am. Rev. Tuberc., **69**, 495 (1954).