

# 結核免疫に関する研究

## 第 2 2 報

### 脱感作の臓器組織呼吸に及ぼす影響に関する研究

#### 第 2 編 o-Aminophenol Azo-Tuberculin による脱感作実験

金沢大学結核研究所細菌免疫部（主任：柿下正道教授）

奥 村 日 貞 太

（受付：昭和34年8月26日）

### 緒 言

著者<sup>1)</sup>はさきに結核死菌流動パラフィン浮遊液（流パラ・ワク）感作モルモットの old tuberculin (OT) による脱感作を行いながら皮膚反応 ("T" 反応), OT 感作血球凝集反応 (M-D 反応) ならびに肝, 肺および脾臓器組織呼吸の変動を総合的に観察した結果, 流パラ・ワク感作モルモットでは "T" 反応は漸次陰転し, M-D 反応抗体価は徐々に上昇し, 臓器組織呼吸は OT より o-aminophenol azo-tuberculin

(OA-Azo-T) によつて著明に影響を受け, 森永<sup>2)</sup>の Schultz-Dale 反応における成績と顕著な対比を示した.

そこで本編では流パラ・ワク感作モルモットに対する OA-Azo-T 脱感作の "T" 反応, M-D 反応ならびに臓器組織呼吸への影響を観察し, OT 脱感作と比較検討した. 以下はその成績の概要である.

### 実験材料ならびに実験方法

#### 1) 実験材料

a) 実験動物：体重 400~500 gm の 10 倍希釈 OT 0.1 ml および OA-Azo-T 5 $\gamma$ /0.1 ml による皮膚反応陰性の健康モルモットを使用した.

b) 動物の結核死菌流動パラフィン浮遊液による感作方法：前編に準じて行つた.

c) 添加抗原として使用した標本：前編と同一の OT および OA-Azo-T を使用した.

d) 組織切片浮遊液：前編に準じてリングエルブド

一糖液を用いた. この液に標本を添加する場合の最終濃度も OT および OA-Azo-T ともに前編と同じである.

#### 2) 実験方法

a) "T" 反応：10 倍希釈 OT 0.1 ml および OA-Azo-T 5 $\gamma$ /0.1 ml を使用し, 注射 48 時間後の硬結径を測定した.

b) M-D 反応および臓器組織呼吸測定法：前編に準じて行つた.

a

### 実験成績

**実験 I** OA-Azo-T 連日皮下注射健常非感作モルモットにおける "T" 反応, M-D 反応および臓器組織呼吸について.

健常非感作モルモット 6 匹に下記のごとく OA-Azo-T を連日腋窩皮下に注射した.

40 $\gamma$ /ml 液毎日 0.1ml 7 日間

40 $\gamma$ /ml 液毎日	0.2ml	7日間
160 $\gamma$ /ml 液毎日	0.1ml	〃
〃	〃	0.2ml
〃	〃	〃
500 $\gamma$ /ml 液毎日	0.1ml	14日間
〃	〃	0.2ml
〃	〃	〃

注射開始4週後より8週後まで2週ごとに2匹ずつを実験に供した。

その成績は表1に示した。

すなわち、

1) "T" 反応：OT によつては6週の1匹が疑陽性、8週の2匹が陽性を示した。OA-Azo-T によつては全期間を通じて全例とも陰性であつた。

2) M-D 反応：弱いながら比較的早期から反応の出現が認められた。すなわち、第4週の1例は1:4、第6週の2例とも1:8、第8週の2例はおのおの1:16および1:8の抗体価を示した。

3) 臓器組織呼吸

i) 肝組織呼吸：注射開始後第4、第6および第8週目についてみると OT 10 "mg"/ml 添加で無添加に比しそれぞれ38%、28%および23%、1 "mg"/ml 添加でそれぞれ29%、4%および15%の増大を示した。一方 OA-Azo-T 10 $\gamma$ /ml の添加ではそれぞれ56%、49%および23%、1 $\gamma$ /ml 添加ではそれぞれ38%、24%および15%と著明な増大を示し、また0.1 $\gamma$ /ml 添加でもそれぞれ37%、10%および4%となお増大を示した。

ii) 肺組織呼吸：注射開始後第4、第6および第8週目についてみると OT 10 "mg"/ml 添加でそれぞれ11%、30%および8%の増大を認めたが、1 "mg"/ml では影響がみられなかつた。また OA-Azo-T ではその各添加濃度においてともにほとんど無添加時と差が認められなかつた。これらのことは前編<sup>1)</sup>で述べた対照群におけると同様である。

iii) 脾組織呼吸：全経過を通じて OT および OA-Azo-T の各添加濃度においてともにやゝ増大を認めたが、前編<sup>1)</sup>の対照群と比べる

と OT 10 "mg"/ml および1 "mg"/ml、OA-Azo-T 1 $\gamma$ /ml および0.1 $\gamma$ /ml 添加による増大度ははるかに低かつた。

実験 II) 流パラ・ワク感作モルモットの "T" 反応、M-D 反応および臓器組織呼吸に及ぼす OA-Azo-T 脱感作の影響。

流パラ・ワク感作後4週目より6匹に実験 I) と同様に OA-Azo-T の連日皮下注射を行つた。

脱感作開始後2、4、6および8週目に "T" 反応を4、6および8週目に M-D 反応および組織呼吸の測定を行つた。

その成績は表2a および2bに示した。

すなわち、

1) "T" 反応：OA-Azo-T による反応は脱感作開始前既に弱く、かつ脱感作開始2週で全例において陰転が認められた。一方 OT による反応は放置群(前編<sup>1)</sup>に述べた)に比べやゝ減弱するが8週後においてもなお処置前にほとんど劣らない陽性値を維持した。

2) M-D 反応：放置群(前編<sup>1)</sup>)では感作後8週で抗体価1:32ないし1:64と頂点を示し以後やゝ減弱するに対し、本群では漸次増強が認められ処置開始後6週で1:64ないし1:128の抗体価を示し以後同値を維持した。

3) 臓器組織呼吸

i) 肝組織呼吸：OT 10 "mg"/ml 添加で脱感作開始後4、6 および8週目にそれぞれ12%、11%および7%の増大を示したが、1 "mg"/ml 添加では影響なく、また OA-Azo-T 10 $\gamma$ /ml 添加で6 および8週目にそれぞれ16 および8%の増大、1 $\gamma$ /ml 添加で8週に10%の増大を示した。

ii) 肺組織呼吸：OT 添加で無影響、OA-Azo-T ではその10 $\gamma$ /ml 添加では各週を通じてやゝ減少を示す程度であつたが、1 $\gamma$ /ml 添加では4、6 および8週目にそれぞれ17%、6% および24%の減少をみ、0.1 $\gamma$ /ml 添加ではそれぞれ20%、7%および23%と減少を示した。

iii) 脾組織呼吸：OT 10 "mg"/ml 添加で各週ともやゝ増大の傾向を示したが、1 "mg"/

ml 添加で影響なく、OA-Azo-T 添加では無影響であつた。

### 総括ならびに考案

当研究所で創製された精製ツベルクリンである OA-Azo-T が優秀な皮膚反応原性を有することは周知の事で、柳沢<sup>2)</sup>は先にこの OA-Azo-T を Tween 80, 流動パラフィンとともにモルモットに注射し、OT による "T" 反応を陽転せしめたと報告した。私も OA-Azo-T を少量より漸次増量し健常モルモットに 8 週間連続注射 (総量 2520  $\gamma$ ) して、OT による "T" 反応出現と、M-D 反応に対する抗体の産生を比較的早期より認めたが同時に行つた OA-Azo-T による "T" 反応は陰性にとどまることを知つた。このことは当教室の森永<sup>3)</sup>が先に行つた実験結果と全く軌を一にしている。

しかして健康モルモットに OA-Azo-T を連日注射したときの組織呼吸についてみると、

肝組織呼吸は "T" 無添加の場合、対照群および健常 OT 連日注射群のそれと差はないが、OT 添加時の増大度は対照群および健常 OT 連注群に比しかなり大であり、OA-Azo-T では、その添加量と平行して増大し、対照群との間に健常 OT 連注群と対照群との間の差以上に更に著明な差が認められた。

肺組織呼吸は、OT 10 "mg"/ml 添加に際し軽度の増大をみたことは対照群および健常 OT 連注群ではみられぬところであつた。また OA-Azo-T 添加によつて受ける影響は本群と対照群あるいは健常 OT 連注群の 3 群の間で差が認められなかつた。

脾組織呼吸は対照群で OT 10 "mg"/ml および 1 "mg"/ml 添加でそれぞれ 35 % および 27 % の増大をみたにかゝらず本群および健常 OT 連注群では 10 "mg"/ml 添加できわめて軽度の増大をみたにすぎない。また OA-Azo-T 添加で軽度ながら増大をみたが、これは対照群および OT 連注群においてはみられぬところであつた。

さて流パラ・ワク感作モルモットに OT 脱

感作処置を施すことにより "T" 反応は陰転し、M-D 反応はかえつて増強すること、またその組織呼吸は OT ことに OA-Azo-T 各濃度添加で抑制されるのに反し非脱感作群においては増大を示し、明らかな対比を示すことはすでに報告した。しかして私は更に流パラ・ワク感作モルモットの OA-Azo-T 脱感作が "T" 反応、M-D 反応および組織呼吸に及ぼす影響を観察するため本実験を行つたところ、M-D 反応抗体価の上昇の点では OT 脱感作の場合とほぼ同結果をみたが、"T" 反応および組織呼吸への影響についてはいささか異なつた結果が観察された。

すなわち、OA-Azo-T による "T" 反応は容易に陰転したが OT による "T" 反応は陰転せず、OT と OA-Azo-T による "T" 反応の解離がみとめられた。

さて組織呼吸についてみると、

肝組織呼吸は OT 各添加濃度でそれぞれ流パラ・ワク感作 OT 脱感作群におけるより増大、健常 OA-Azo-T 連注群のそれよりはるかに低下を示し、OA-Azo-T 各添加濃度では影響を受けなかつたが流パラ・ワク感作 OT 脱感作群において減少、健常 OA-Azo-T 連注群においては著明な増大を示したのと明らかに異なり、むしろ対照群のそれに近づいた。

肺組織呼吸は OT 添加で流パラ・ワク感作 OT 脱感作群におけると同様無影響なるも対照群では増大をみた。OA-Azo-T の 1  $\gamma$ /ml および 0.1  $\gamma$ /ml 添加でそれぞれ 15 % および 16 % の減少をみたが対照群では無影響であつた。

脾組織呼吸については OT および OA-Azo-T 添加による影響の対照群および流パラ・ワク感作 OT 脱感作群との間に著明な差はみられなかつた。

## 結 語

健常非感作モルモットならびに流パラ・ワク感作モルモットに OA-Azo-T を少量ずつ連日皮下注射しながら, "T" 反応, M-D 反応ならびに肝, 肺および脾の組織呼吸について観察し, 次の成績を得た.

1) 健常モルモットでは OA-Azo-T 連続注射により i) OT をもつてする "T" 反応の陽転が招来されたが, OA-Azo-T をもつてする "T" 反応は陰性にとどまり, ii) OT 感作血球に対する抗体の産生が比較的早期よりみられた. また iii) その組織呼吸をみるに, "T" 無添加時は対照群との間で差異なく, OT および OA-Azo-T 添加時はともに対照群のそれより強いこう進を示した.

2) 流パラ・ワク感作モルモットでは OA-Azo-T 脱感作により i) OA-Azo-T をもつてする "T" 反応はすみやかに陰転したが, OT をもつてする "T" 反応は陰転せず, ii) M-D 反応抗体価は徐々に上昇した. また iii) その組織呼吸をみるに, "T" 無添加時は非脱感作および OT 脱感作群と差異なく, 対照群に比すればこう進を示した. OT 各濃度添加時の増大度は OT 脱感作群よりこう進し, 対照群にはほぼ近かつた. また OA-Azo-T の各濃度添加で影響を受けること少なく, 非脱感作群および健常 OA-Azo-T 連注群では増大, OT 脱感作群では減少をみたことゝ明らかな対比を示し, 対照群のそれに酷似していた.

## 全編の総括

健常モルモットあるいは流パラ・ワク感作モルモットに対する OT と OA-Azo-T の連続注射によつて, それぞれの臓器組織呼吸がどのような影響を受けるかを基質に OT および OA-Azo-T を加えて検討したところでは,

1. 健常無処置モルモット臓器組織呼吸に対し OT 10<sup>10</sup>mg/ml あるいは OA-Azo-T 10<sup>10</sup>γ/ml (皮膚反応に用いる量であつて両者は等力価) およびそれ以下の添加濃度では影響を与えなかつた.

2. 健常モルモットにそれぞれ OT および OA-Azo-T を連続注射すると臓器組織呼吸は OT および OA-Azo-T ことに後者により著しい影響を受けいづれも増大を示した.

3. 流パラ・ワク感作モルモットの OT あるいは OA-Azo-T 脱感作を行うと, 臓器組織呼吸は OT 脱感作群では OT および OA-Azo-T

ことに後者により著しく影響を受けいづれも減少を示したが, OA-Azo-T 脱感作では OT および OA-Azo-T により増大を示したが非脱感作群と明らかな差を示さなかつた.

このような成績は健常モルモットに対する OA-Azo-T の連続注射が OT による "T" 反応感受性を賦与し, OA-Azo-T による "T" 反応感受性を賦与せず, 流パラ・ワク感作モルモットでは OT による T 反応を陰転せしめないが, OA-Azo-T による "T" 反応を容易に陰転せしめたのに反し, 健常モルモットに対する OT 連続注射が OT による "T" 反応感受性を賦与せず, 流パラ・ワク感作モルモットでは OT による "T" 反応を陰転せしめたことゝ相対比せしめて OT と OA-Azo-T の間に存する抗原性の差を理解する上での一つの示唆を与えられたものといえよう.

文 献

- 1) 奥村日貞太：金大結研年報，18（中），139，1960.
- 2) 柳沢 謙：アレルギー，4，73，1955.

- 3) 森永健市：金大結研年報，16（上），1，1957；15（中），163，1956.

表 1 OA-Azo-T 連日皮下注射健常モルモットに

モ番 ル モ ツ ト号	OA-Azo-T 注射期間 (OA-Azo-T 注射量)	"T" 反 応 OT (1:10) OA-Azo-T (5r/0.1ml)	M-D反応 抗 体 価	肝 組 織 呼 吸 (Q <sub>O2</sub> )					
				無添加	OT 添加量		OA-Azo-T 添加量		
					10"mg" /ml	1"mg" /ml	10r/ml	1r/ml	0.1r/ml
201	4 週 (420r)	(-)	1 : 4 >	4.87	7.44	6.42	8.77	7.50	6.58
204		(-)	1 : 4	4.58	5.61	5.84	6.02	5.57	6.38
202	6 週 (1120r)	(-)	1 : 16	6.08	8.92	6.90	9.90	8.20	7.01
203		(-)	1 : 8	5.68	6.11	5.43	7.72	6.40	6.01
205	8 週 (2520r)	< 10 × 8 (-)	1 : 16	5.89	6.80	6.45	7.74	7.03	6.45
207		< 12 × 10 (-)	1 : 16	5.29	8.24	7.69	7.45	7.01	6.32

注 : 1) M-D反応.....Middlebrook-Dubos 反応  
2) OT は原液 1ml を 1 "gm" として換算してあらわした.

表 2b 流パラ・ワク感作モルモットの "T" 反応, M-D

モ番 ル モ ツ ト号	感作後期間 脱感作期間 (OA-Azo-T量)	"T" 反 応 OT (1:10) OA-Azo-T (5r/0.1ml)	M-D 反 応 抗 体 価	肝 組 織 呼 吸 (Q <sub>O2</sub> )					
				無添加	OT 添加量		OA-Azo-T 添加量		
					10"mg" /ml	1"mg" /ml	10r/ml	1r/ml	0.1r/ml
301	8 週 脱感作 4 週 (420r)	< 25 × 18 (-)	1 : 32	6.38	6.46	5.63	6.50	6.30	6.55
302		< 20 × 20 (-)	1 : 32	7.90	9.53	7.38	7.12	7.01	7.37
305	10 週 脱感作 6 週 (1120r)	< 19 × 18 (-)	1 : 64	7.35	7.82	7.30	7.92	7.12	8.01
307		< 21 × 19 (-)	1 : 128	6.92	8.12	6.54	8.61	7.56	7.24
306	12 週 脱感作 8 週 (2520r)	< 20 × 18 (-)	1 : 64	7.63	8.65	7.43	8.30	8.62	8.41
308		< 17 × 15 (-)	1 : 128	7.23	7.30	6.42	8.02	8.12	8.51

注 : 表 1 に同じ.

表 2a 流パラ・ワク感作モルモットの OA-Azo-T 脱感作経過に伴う "T" 反応の消長

モ番 ル モ ツ ト号	感 作 菌 量	"T" 反 応 : OT (1 : 10) および OA-Azo-T (5r/0.1ml)				
		感 作 後 4 週	感 作 後 6 週 (脱 2 週)	感 作 後 8 週 (脱 4 週)	感 作 後 10 週 (脱 6 週)	感 作 後 12 週 (脱 8 週)
301	H <sub>37</sub> Rv 2mg	30 × 29, 10 × 8	25 × 19, 3 × 3	25 × 18, (-)	●	●
302	"	25 × 22, 9 × 8	25 × 15, (-)	20 × 20, (-)	●	●
305	"	25 × 23, 8 × 6	22 × 20, (-)	19 × 19, (-)	19 × 18, (-)	●
307	"	29 × 25, 7 × 7	25 × 20, (-)	21 × 22, (-)	21 × 19, (-)	●
306	"	25 × 21, 9 × 9	21 × 20, (-)	20 × 20, (-)	19 × 19, (-)	20 × 18, (-)
308	"	23 × 20, 10 × 10	25 × 19, (-)	23 × 20, (-)	20 × 19, (-)	17 × 15, (-)

おける "T" 反応, M-D 反応および臓器組織呼吸

肺組織呼吸 (Q <sub>O<sub>2</sub></sub> )						脾組織呼吸 (Q <sub>O<sub>2</sub></sub> )					
無添加	OT添加量		OA-Azo-T添加量			無添加	OT添加量		OA-Azo-T添加量		
	10"mg"/ml	1"mg"/ml	10γ/ml	1γ/ml	0.1γ/ml		10"mg"/ml	1"mg"/ml	10γ/ml	1γ/ml	0.1γ/ml
6.20	6.90	6.39	7.21	7.17	7.06	10.46	11.03	11.03	11.41	11.00	10.83
6.53	7.35	6.75	6.95	6.81	6.04	10.34	10.57	10.00	10.94	10.50	10.20
6.39	7.86	6.79	6.95	6.60	6.66	10.70	11.47	11.00	10.24	10.24	10.10
5.55	7.75	5.80	5.92	6.12	5.75	9.98	10.74	9.90	10.50	10.31	9.99
6.65	7.21	6.39	6.67	7.40	7.89	9.28	10.22	9.36	10.98	10.72	10.60
7.86	7.26	7.31	8.02	7.95	7.70	8.19	8.30	8.18	8.36	8.30	8.25

反応および臓器組織呼吸に及ぼす OA-Azo-T 脱感作の影響

肺組織呼吸 (Q <sub>O<sub>2</sub></sub> )						脾組織呼吸 (Q <sub>O<sub>2</sub></sub> )					
無添加	OT添加量		OA-Azo-T添加量			無添加	OT添加量		OA-Azo-T添加量		
	10"mg"/ml	1"mg"/ml	10γ/ml	1γ/ml	0.1γ/ml		10"mg"/ml	1"mg"/ml	10γ/ml	1γ/ml	0.1γ/ml
7.12	7.14	7.32	7.12	6.13	5.70	10.88	10.75	9.87	8.64	9.40	9.65
8.88	8.86	8.46	8.52	6.95	7.55	9.88	11.24	8.64	11.90	8.95	11.90
8.30	8.61	8.21	8.40	8.12	8.10	9.51	9.80	9.12	9.51	9.31	8.72
7.95	7.70	8.12	7.59	7.04	6.90	9.10	9.60	8.11	9.13	9.60	8.93
7.85	8.51	8.10	6.51	6.02	5.96	9.23	10.15	9.51	9.80	9.23	8.12
6.92	6.54	6.10	5.90	5.12	5.37	8.72	8.90	7.88	9.42	9.40	9.03