

ツベルクリン反応に関する解析的研究

第1報 ツベルクリン反応度曲線による種々の

ツベルクリン反応関与因子の検討

金沢大学結核研究所細菌免疫部（主任：柿下正道教授）

福 山 裕 三

（受付：昭和40年11月1日）

緒 言

前報¹⁾でツベルクリン反応を解析的に研究するためにツベルクリン反応度曲線を想定し、それにより種々の条件におけるツベルクリン反応の現われ方を検討することにより遅延性皮膚反応としてのツベルクリン反応の全貌を把握でき

るのではないかと提案した。

その後ツベルクリン反応度曲線を用いて種々のツベルクリン・アレルギー状態における反応関与因子に関する解析的考察を行ったので、以下その成績について述べる。

研 究 計 画

この研究は次の6つの観点により実験を行った。

- 1) 感作原量とツベルクリン反応（以下ツ反と略す）との関係
- 2) 感作期間とツ反との関係

3) 精製過程を異にする反応原とツ反との関係

- 4) 菌種を異にする反応原とツ反との関係
- 5) 反応液量とツ反との関係
- 6) 感作動物の体重とツ反との関係

方法および材料

実験1 感作原量とツ反の関係について

それぞれ 0.2mg/ml, 1 mg/ml, 5 mg/ml の乾燥菌体を含む $H_{37}R_V$ 死菌流パラワクチン 1 ml を各群 5 匹の約 350gm の白色モルモットの臀筋内に接種した。

感作後 1 週間, 3 週間にモルモットの背部の 4 カ所にそれぞれ 100, 50, 25, 10 γ /0.1ml の $H_{37}R_V$ -o-Aminophenol Azo-Tuberculin²⁾

($H_{37}R_V$ -AT) を皮内注射し, 12時間, 48時間後の発赤径を記録し, 48時間後の発赤径でツ反応度曲線を描いてそれらを比較検討した。

実験2 感作期間とツ反との関係について

30匹のモルモットを 1 mg/ml- $H_{37}R_V$ 死菌流パラワクチン 1 ml で感作し, 各週 3 匹ずつ実

験に供した。この実験に用いた $H_{37}R_V$ -AT の濃度はそれぞれ 25, 10, 5, 2.5 γ /0.1ml であり, 感作が相当進んだ場合 1 γ /0.1ml の濃度の AT をつけ加えた。判定は実験 1 に準じて行った。

実験3 製法の異なる反応原とツ反の関係について

1mg/ml- $H_{37}R_V$ 死菌流パラワクチン 1ml 感作モルモット 5 匹に感作後 8 週に Lot 番号を異にする 2 つの $H_{37}R_V$ -AT と $H_{37}R_V$ -生-AT ($H_{37}R_V$ 5 週間培養濾液を加熱することなく Seitz 濾過器で濾過後その濾液から精製した AT) と $H_{37}R_V$ -PF³⁾ ($H_{37}R_V$ 加熱培養濾液より得た蛋白分割) をそれぞれ 25, 10, 5, 2.5 γ /0.1ml の 4 濃度で皮内反応を行ない 48 時

間後の発赤径を測定し、各ツベルクリン反応度曲線を描き比較検討した。

実験4 菌種を異にする反応原とツ反との関係について

1mg/ml- $H_{37}R_V$ 死菌流パラワクチン 1 ml ずつで A, B 2 群各 5 匹ずつのモルモットを感作し、10週後 A 群にそれぞれ 100, 50, 20, 10 γ /0.1ml の濃度の $H_{37}R_V$ -AT, 牛₁₀-AT, P-1-AT, 山本 S-AT で皮内反応を行った。同時に B 群ではそれぞれ上記 4 段階の濃度の $H_{37}R_V$ -AT, 甲府-AT, 三林-AT で皮内反応を行った。両群ともに 48 時間後の発赤径からツ反応度曲線を描き、A, B 群間のツ反応度曲線の比較は両群の $H_{37}R_V$ -AT の反応径の比率から計算して補正し各種 AT のツ反応度曲線を作り比較検討した。

実験5 反応液量とツ反の関係について

1mg/ml- $H_{37}R_V$ 死菌流パラワクチン 感作モ

ルモット 5 匹を用い、感作 5 週後に 25, 10, 5, 2.5 γ /0.1ml および 25, 10, 5, 2.5 γ /0.2ml の $H_{37}R_V$ -AT で皮内反応を行った。一方同様の感作モルモットを用い感作後 10 週に 25, 10, 5, 2.5 γ /0.1ml, 25, 10, 5, 2.5 γ /0.2ml, 25, 10, 5, 2.5 γ /0.3ml, 25, 10, 5, 2.5 γ /0.4ml の 4 系列の $H_{37}R_V$ -AT で皮内反応を行った。48 時間後の発赤径から各群のツ反応度曲線を求め比較検討した。

実験6 感作動物の体重(あるいは年齢)とツ反の関係について

1mg/ml- $H_{37}R_V$ 死菌流パラワクチン 1 ml ずつで体重 350gm の若いモルモット 4 匹と 600gm の老いたモルモット 4 匹を感作し、1 週後、3 週後にそれぞれ 100, 50, 25, 10 γ /0.1ml の $H_{37}R_V$ -AT で皮内反応を行い 48 時間後の発赤径からツ反応度曲線を求め比較検討した。

結

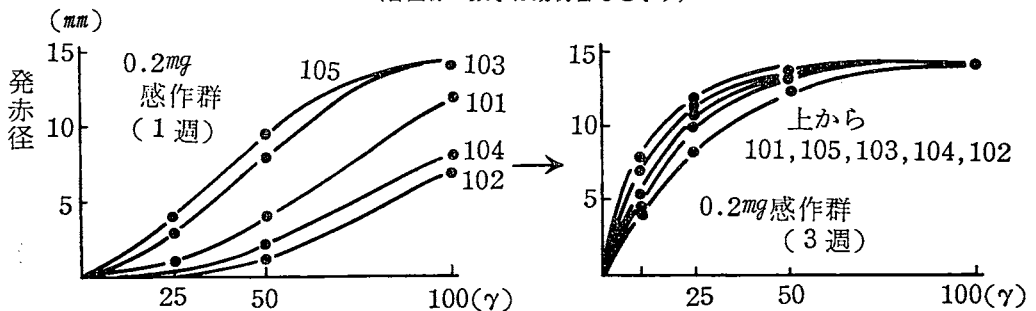
実験1 $H_{37}R_V$ 死菌流パラワクチンの感作量を 0.2mg, 1mg, 5mg の 3 群にわけて感作し、1 週後、3 週後のツ反応度曲線を比較した成績は第 1 図に示す。感作後 1 週間の成績ではいずれの感作群ともに 100 γ の $H_{37}R_V$ -AT では 5 ないし 14mm の発赤径を示しかかなりの個体差が認められるが、感作後 3 週では 50 γ の抗原量でほぼ飽和された反応を示し、ばらつきも 25 γ では 8 ないし 12mm と少なくなり 3 群と

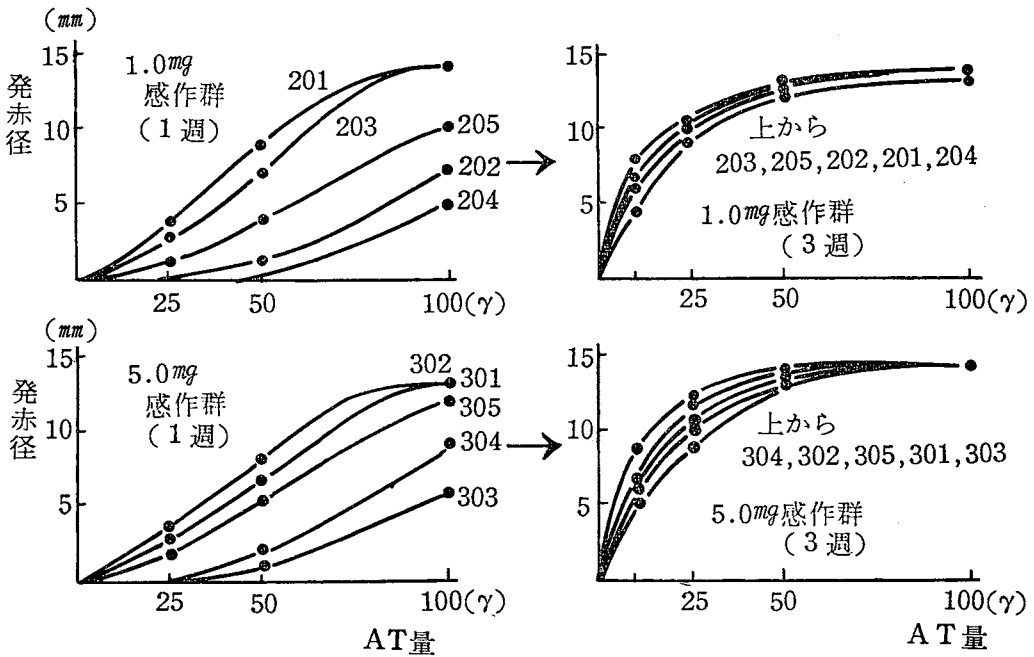
果

もほぼ均一な感作状態を示すようになる。1 週、3 週を通じて 3 群間に特に感作状態の差異は認められない。個々の動物について感作状態の推移を見れば、1 週後に強い反応を示したものは大体 3 週後も他よりは強い反応を示すが、No.304 モルモットのように 1 週目ではわりあい弱く感作されていたものでも 3 週後には非常に強く感作される場合もある。

第 1 図 感作原量とツ感受性の関係

(各曲線の数字は動物番号を示す)

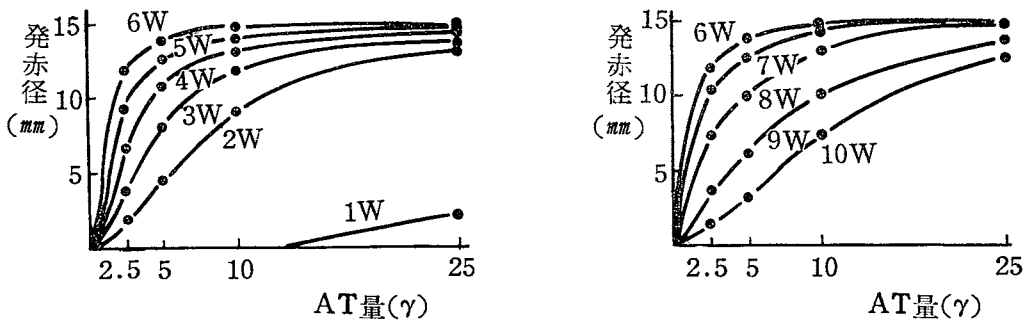




実験2 1mg- $H_{37}R_V$ 死菌流 パラワクチン 感作動物で毎週3匹ずつ各種濃度の $H_{37}R_V$ -AT で皮内反応を試み48時間後の発赤径の平均をツ反応度曲線で表したのが第2図である。感作後1週では感作はきわめて弱いが2週目までにはかなり急速に感作が進み、以後3週、4週と感

作の進み方は徐々に鈍くなり、6週目に最高の感作状態を示すようになる。6週を頂点として7～9週にかけ経過とともに徐々に感作は弱まり、10週ではかなり弱まり丁度2週目の感作状態と同様となり、かつ反応度曲線の形もほぼ一致することが認められた。

第2図 感作期間とツ・アレルギーの関係



実験3 1mg- $H_{37}R_V$ 感作動物に Lot 番号の異なる2つの $H_{37}R_V$ -AT と生の培養濾液から精製した $H_{37}R_V$ -生AT と $H_{37}R_V$ -PF の4種のツベルクリンで皮内反応を行った48時間後の発赤径から求めたツ反応度曲線を第3図に示した。

この結果、Lot 番号を異にする2つの $H_{37}R_V$ -AT は全く同様なツ反応度曲線を示した。

一方 $H_{37}R_V$ -生-AT は $H_{37}R_V$ -AT に比べてわずかに弱い反応が現われたけれどもその差はきわめて少ない。それに反し $H_{37}R_V$ -PF はきわめて強い反応を示したことは興味深いこと

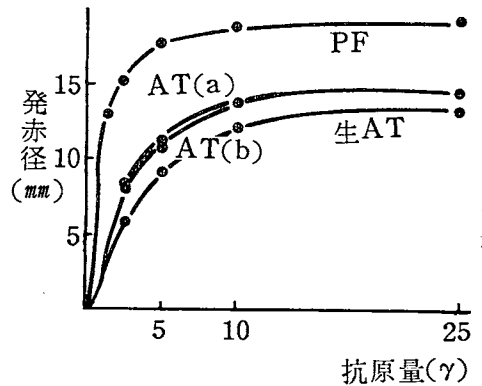
である。

実験4 1 mg- $H_{37}R_V$ 感作 モルモットに 7 種の抗酸菌から作られた AT で皮内反応で行った成績が第4図に示されている。

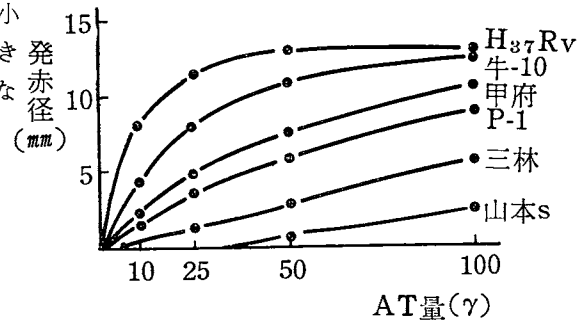
反応の強度の順位はまず, $H_{37}R_V$ -AT 次いで牛₁₀-ATが強く, 甲府-AT, P-1-ATが中等度の反応を示し, 三林-AT, 山本SA-T はきわめて弱い反応を示した。

実験5 反応液量とツ反の関係は感作後5週目と10週目の感作期間を異にした2群で皮内反応を行ったが10週群では5週群に比し感作状態がかなり弱かったが, 両群の各反応液量におけるツ反応度曲線を比較していえることは液量が少なければ低濃度の抗原量では発赤径がわりあい大きく, 高濃度ではわりあい小さい。反応液量が増すにつれて低濃度では反応径がわりあい小さく高濃度になるにつれて反応径がぐんぐん大きくなり, 従ってツ反飽和量ははるかに大きくなることが認められる。

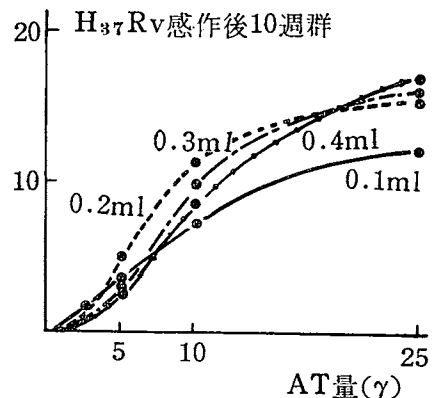
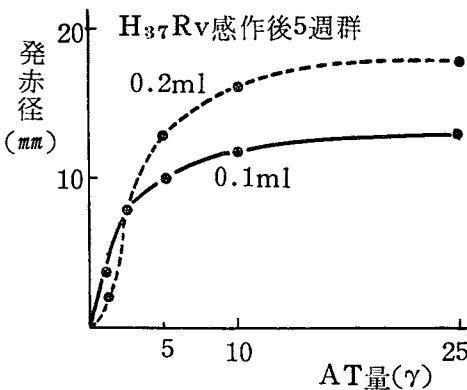
第3図 製法の異なる抗原を用いた場合のツ反応の相異



第4図 $H_{37}R_V$ 感作動物における各種ATのツ反応度曲線



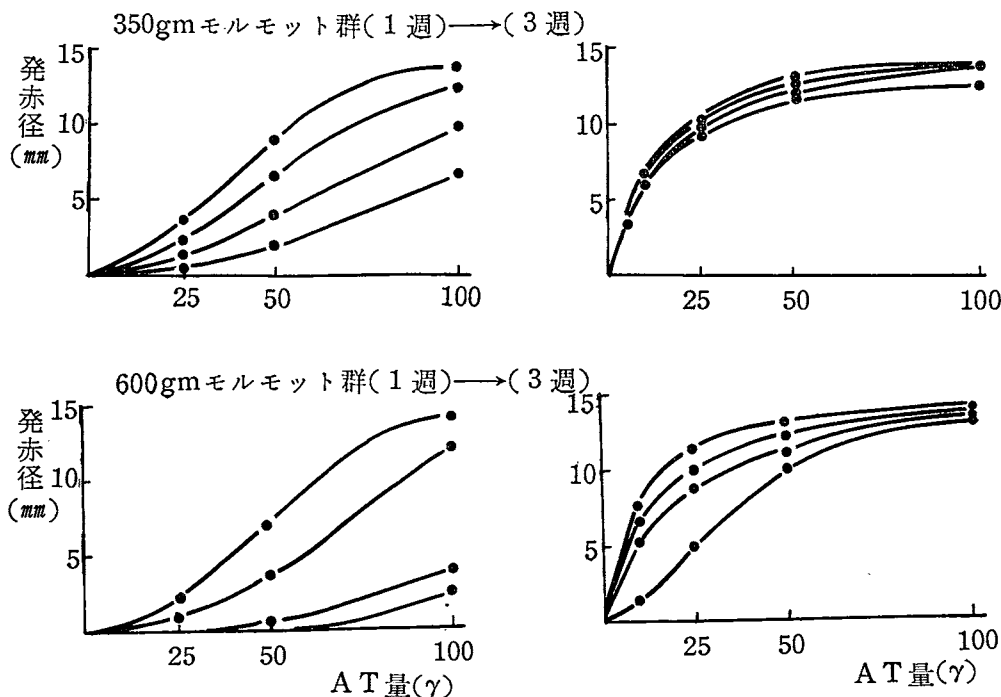
第5図 反応液量とツ反の関係



実験6 体重 350gm 群と 600gm 群に 1 mg- $H_{37}R_V$ 死菌流パラワクチンで感作し 1 週, 3 週後に皮内反応を行った成績を第6図に示す。

若い 350gm 群は 600gm 群よりよく感作され感作のばらつきも少ない。

第6図 感作動物の体重とツ・アレルギーの関係



考

案

本実験は $H_{37}R_V$ 感作モルモットを用い、種々の濃度の AT の皮内反応の発赤径からツベルクリン反応度曲線を描き、それにより種々のツベルクリン反応関与因子を検討し、ツベルクリン反応の全貌を知ろうとする目的で企図された。予報¹⁾でのべたごとく、ツ反関与因子は I) 感作原に関する因子 II) 反応原に関する因子 III) 個体に関する因子 の3つに大別できる。それらは次のように細別されるであろう。

ツベルクリン反応関与因子

I) 感作原に関する因子

- 1) 感作原量 2) 感作期間
- 3) 感作方法

II) 反応原に関する因子

- 4) 反応原の製法 5) 反応原の菌種
- 6) 判定時間 7) 反応液量

III) 個体に関する因子

- 8) 動物の皮膚の性状
- 9) 動物の種類、系統

- 10) 動物の健康状態 11) 動物の個体差
- 12) 動物の年齢・体重

このうち判定時間の問題および反応原の菌種の問題の一部についてすでに予報で述べたがここでは1) 2) 4) 5) 6) 7) 12) の各因子がツ反といかなる関係があるかについて検討した。

感作原量については 0.2mg ないし 5mg の間ではほとんど同程度の感作状態が得られることがわかったがそれ以下の量についてはさらに検討を要する。

感作期間については1週ではきわめて弱く感作されるが1週より2週にかけて急速に感作は進み、以後6週まで徐々に強まり、6週を頂点に徐々に弱まり10週では2週とほとんど同程度の感作状態となることが認められた。このことから死菌流パラワクチンによる感作でツ反を行うのに適した時期はツ反の変動が少なく一様に感作されている4週から8週の間とみてよからう。

またこの感作期間に関する実験において最初同一動物で感作状態を観察する予定であったが毎週総量 185 γ という大量の AT を用いるため脱感作の影響が認められたので、一度反応に用いた動物はこの種の実験に再び使用しなかった。AT により脱感作が比較的容易におこることは森永・柳⁴⁾により認められている。いかなるふうに脱感作されるかをツ反応度曲線で追求するのは興味深いことであるが、この問題は次報に譲る。

Lot の異なる 2 つの AT で皮内反応を行って得た 2 つのツ反応度曲線は完全に一致した。

AT のツ反応原としての安定性はしばしば強調されているが、本実験の成績も AT の優秀性を示すものといえよう。

生濾液から得られた生 -AT は AT よりわずかに弱い反応を示すが、その差はきわめて少なく、両ツベルクリンの反応原性はほとんど同じであろうと推察されるが、このわずかな差は加熱により菌体より抽出された菌体成分に基づくものであらうと思われる。H₃₇R₇ 感作モルモットに種々の抗酸菌から精製した AT で同一個体にツ反を行った場合 H₃₇R₇、牛-10、甲府、P-1、三林、山本S 各 AT の順に反応が強より弱の方に向かう。

感作に用いた菌と同一菌よりの AT ではもっとも強く反応することは予想されることであり、事実 H₃₇R₇ はもっとも強く反応した。次いでもっとも近縁と思われる牛型菌牛-10 が続き、さらに小川培地でヒト型菌とほとんど同じ性状を示す nonphotochromogen 甲府、人に肺結核とほとんど鑑別できない病変をおこす photochromogen P-1 と続いている。

結

ツベルクリン反応を解析的に研究するためにツベルクリン反応度曲線を用い、種々の条件のもとで6つの実験を行い次の結果を得た。

- 1) 結核菌死菌流パラワクチンでモルモットを感作する場合 0.2mg から 0.5mg (乾燥重量) の感作量では同程度に感作される。
- 2) 感作後 1 週から 2 週にかけ急激にツ・アレ

非常に弱いツ反を示したものはともに rapid grower に属する三林と山本S であった。

これらはともに PAS 黒化現象⁵⁾を示す菌であるがツ反応では型特異性においてはっきり鑑別出来る⁶⁾ことは前報で述べた。また山本S 群⁶⁾あるいは M. *todayi*⁷⁾ に属する山本S は他の抗酸菌とは非常に異った地位を占めていることは、種々の観点から追求されている。このようにこの 7 種の AT によるツ反応の強度の順位は感作菌株に対する近縁関係の順位と見てよいと思われる。

反応液量の問題では反応液量を多くすればツ反飽和量が増すと同時にツ反飽和径が大きくなることが観察された。

この問題を解決するためには皮膚の物理学的性状を追求せねばならないが、ここでは次のように推論してみた。

反応液量を増すことは単位液量中の抗原濃度の低下を意味する。また遅延性皮膚反応はその部位の単位組織中の抗原量によりおこるものと考え、一方液量が増せばそれだけ広い範囲に抗原が散布されるであろう。しかも組織のふろにより抗原は中心に近いほど多く集っているにちがいない。

これらの仮定から低濃度の抗原量では反応液量を増せば単位液量中の抗原濃度が更に低下するためにツ反応径は小さくなるであろう。それに反し高濃度の抗原量では反応液量を増せばそれだけ広く抗原が散布されるからツ反応径は大きくなる。とにかくこの問題は組織中の抗原の分布とその量的関係にあると思われるが詳細については目下研究中である。

論

ルギーは強まり以後 6 週まで徐々に感作は進み、6 週を頂点に徐々に弱まっていく。

- 3) H₃₇R₇-AT では Lot によるツ反の強弱の差はない。また H₃₇R₇-生-AT は H₃₇R₇-AT に比し僅かに弱い反応を示す。
- 4) H₃₇R₇ 感作動物の皮内反応において 7 種の抗酸菌の AT を用いた場合、H₃₇R₇、牛-

10, 甲府, P-1, 三林, 山本S各 AT の順にツ反応は弱まる. この順は $H_{37}R_v$ 株に対する近縁関係の順位と一致するように思われる.

5) ツ反応において反応液量が増すほど, 低濃度では反応が弱く, 高濃度では反応が強く現

われる傾向がある. 即ち反応液量が増せばツ反飽和量は増し, かつツ反飽和径も大きくなる.

6) 若い動物は老いた動物に比し感作されやすく, かつ感作の個体差も少ない.

文

- 1) 福山裕三：金大結研年報, 23, 1965.
- 2) Ito, R., Koshimura, S.: Jap. Med. J., 1, 427, 1948.
- 3) 浅見望, 他：日細誌, 9, 271, 1954.
- 4) 森永健市, 柳碩也：金大結研年報, 16,

献

- 1, 1958.
- 5) 福山裕三：金大結研年報, 22, 1, 1964.
- 6) 福山裕三：金大結研年報, 23, 23, 1965.
- 7) 武谷健二, 中山宏明, 中山雅子：結核 40(4), 60, 1965.