

結核免疫に関する研究

第 19 報

結核菌菌体浸出液の免疫学的研究

第 3 編 肺結核患者喀痰より分離せる菌株の浸出液について

金沢大学結核研究所細菌免疫部（主任：柿下正道教授）

山 本 純 夫

（受付：昭和34年8月1日）

緒 言

先に¹⁾私はヒト型結核菌の加熱浸出液（以下“P”と略記）を作り、その反応原性および免疫原性を追求し、その結果については既に報告した。今回は教室保存および肺結核患者喀痰より分離した薬剤耐性菌株を用いてPを作り、これ

とそれら菌株より得たOTの反応原性を比較するとともに、これらPあるいはOTの反応原性と原株の薬剤耐性度との関連性をも検討した。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) 教室保存株のOTおよびP：薬剤感性ヒト型結核菌 H₂ 株 (H₂-S), SM 10,000γ/ml 耐性 H₂ 株 (H₂-SM・R)²⁾ および INAH 100γ/ml 耐性 H₂ 株 (H₂-IN・R)³⁾ のそれぞれの Sauton 培地 8 週培養ろ液より型のごとくに OT を、また培養菌体を 0.01M クエン酸ソーダに 37°C, 48 時間浸漬し氷室に 7 日間保存した後浸出液を作製して P_I(Na.cit. 37°C 48 時間) を得この沈査を更に蒸留水で 100°C 30 分浸出し、氷室に 7 日間保存して P_{II}(Aq. dest. 100°C 30 分) を得た。これら浸出操作の細部にわたつては前報¹⁾に述べた。

2) 患者喀痰より分離した菌株の P および OT：3% 小川培地で分離培養された肺結核患者喀痰菌をグリセリン馬鈴薯培地を通過せしめたのち Sauton 培地で 8 週間培養し、その菌体および培養ろ液より前報¹⁾に準じそれぞれ蒸留水浸出液 (P) および OT を作った。なおこれら分離株の薬剤耐性度を薬剤含有 3% 小川および Kirchner 培地で測定した。

3) 使用抗血清および反応術式はすべて前報¹⁾に記載したとおりである。

実験成績

I. 教室保存 3 株の OT および P についての実験

1) 皮膚反応

第 1 表は H₂-S, H₂-SM・R および H₂-IN・R の各 OT 間、各 P_I 間ならびに各 P_{II} 間の皮膚反応じやく起力を比較したものである。これに

よると皮膚反応じやく起力は

$$OT\text{“}H_2\text{-S”} = OT\text{“}H_2\text{-SM}\cdot R\text{”} < OT\text{“}H_2\text{-IN}\cdot R\text{”}$$

$$P_I\text{“}H_2\text{-SM}\cdot R\text{”} < P_I\text{“}H_2\text{-IN}\cdot R\text{”} < P_I\text{“}H_2\text{-S”}$$

$$P_{II}\text{“}H_2\text{-S”} < P_{II}\text{“}H_2\text{-SM}\cdot R\text{”} < P_{II}\text{“}H_2\text{-IN}\cdot R\text{”}$$

の関係にあり、全般的には OT および P とともに INAH 耐性株由来のもの皮膚反応の力価は高

く, SM 耐性由来のもの力価は低い傾向が認められた。

2) 血球感作能および OT 感作血球凝集反応阻止能

3 種菌株の OT, P_I および P_{II} の血球感作能ならびに OT “H₃₇Rv” 感作血球凝集反応阻止能試験の結果を第 2 表に示した。この表からわかるように両反応においてともに

$$\begin{aligned} & \text{OT} \text{“H}_2\text{-SM}\cdot\text{R”} \ll \text{OT} \text{“H}_2\text{-S”} = \text{OT} \text{“H}_2\text{-IN}\cdot\text{R”} \\ & \text{P}_I \text{“H}_2\text{-SM}\cdot\text{R”} \leq \text{P}_I \text{“H}_2\text{-S”} < \text{P}_I \text{“H}_2\text{-IN}\cdot\text{R”} \\ & (\text{P}_{II} \text{についても } \text{P}_I \text{ と同様}) \end{aligned}$$

の関係にあつた。すなわち感生株と比較し SM 耐性株についてみると, その OT 中の血球感作能物質は非常に少ないが, P_I および P_{II} については多少この傾向はあつても OT ほど顕著ではなく, 一方 INAH 耐性株についてみると, その P_I および P_{II} 中の血球感作能物質はやや多いが, OT では格別差がなかつた。

II. 患者喀痰より分離せる菌株の OT および P についての実験

1) 患者分離株の薬剤感受性

18 例の患者喀痰より分離培養した菌株の SM, INAH, PAS ならびに OM に対する感受性を測定すると第 3 表のとおりであつた。すなわち SM 0.01~1,000⁷/ml, INAH 0.01~10⁷/ml, PAS 0.1~100⁷/ml, OM 0.1~17/ml 含有 Kirchner 培地に發育する菌株を含んでいた。

2) 患者分離株 OT の反応原性

上述の 18 株より得た OT の血球感作能は第 4 表に示すごとく, 最も低いもの (805) より最も高いもの (菊尾) まではなほだしい差があつた。またこれら OT の OT “H₃₇Rv” 感作血球凝集反応阻止能はおおむね血球感作能に並行して

いた。なおこれら OT 中最高の血球感作能を示した OT はおおよそ対照として用いた教室保存青山 B 株 OT とほぼ等しかつた。しかるに沈降反応原性は前記血球感作能あるいは M-D 反応阻止能と全く並行関係を認めず, 対照の青山 B 株 OT との間で一般にそれほど著明な差は認められなかつた。

また OT 作製に用いた菌株の薬剤感受性とそれら OT の血清反応との間には判然とした並行関係を見出し得なかつた。すなわち SM 10⁷/ml 以上の耐性を示した 11 株について血球感作能を比較するに 8 株は分離感生株とほとんど同様の値を示し, 中, 伊藤および 770 の 3 株は教室保存 H₂-SM-R 株における成績のごとくその感作能は低かつた。

また 805 株は SM および PAS では 1⁷/ml, INAH および OM では 0.1⁷/ml で發育を認め, ほとんど感生菌に近い薬剤感受性を示したにもかかわらずその血球感作能はきわめて弱かつた。

3) 患者分離株 P の反応原性

上記 18 菌株より得た P の血球感作能および OT “H₃₇Rv” 感作血球凝集反応阻止能は第 5 表のごとく, OT の場合のようにはなほだしい差がなくおおよそ近似しており, 対照の青山 B 株 P よりやや弱い傾向を認め, かつ沈降反応原性も対照の青山 B 株 P との間に著しい差を示さなかつた。

またこれら P の反応原性と分離菌株の薬剤感受性の程度との関連性は全く見出されず, 更に同一の菌株に由来する P と OT の反応原性の間にもならぬ並行関係が認められなかつた。

総括ならびに考案

結核菌菌体抽出物または OT をもつてする結核症の血清学的反応はその成績が常に一致せず, かつ陽性率の低いことから全く顧みられなかつたが, Middlebrook ら⁹⁾⁻¹⁰⁾ 以来, この分

野に新生面が展開され著しい進展がみられるに至つた。

さて M-D 反応において血球感作原として結核菌菌体抽出液あるいは OT が用いられてお

り、私は先に抽出液が血球感作原としてすぐれている場合のあることを指摘したのであるが、今回は教室保存株ならびに患者喀痰より分離した菌株のPとそれぞれのOTの反応原性を比較検討した。なお近時結核化学療法において菌の薬剤耐性化が問題とされており、その機転解明が各方面より試みられているが、本実験でもその一端に資する目的で教室保存株ならびに患者分離菌株の薬剤感受性とそのOTあるいはPの反応原性との関連性について検討した。得られた成績を総括すると、保存株のSM耐性株OTの血球感作能は低く、INAH耐性株Pの血球感作能はやや高かった。このことは菌の薬剤耐性化による物質代謝の変化に由来すると考えられるが、患者分離株ではその薬剤感受性の高低とOTあるいはPの血球感作能との間に相関が認められなかつた。

結 論

教室保存のヒト型結核菌H₂株でその薬剤感受性株、SM耐性株およびINAH耐性株、ならびに患者より分離した薬剤感受性の異なる18株のOTおよびPとMiddlebrook-Dubos抗血清との間に各種免疫反応を行つて次の結果を得た。

I 教室保存株について

1) 皮膚反応じやく起力においては、INAH耐性株OTおよびPの力価が高く、SM耐性株OTおよびPのそれは低い傾向にあつた。

2) SM耐性株OTの血球感作能は薬剤感受性株OTおよびINAH耐性株OTに比しはなほ低い、これら3株のPの血球感作能の間に

ここに注目すべきことは分離菌のOT間では血球感作能にかなり高低の差が著しいのに反し、P間では感作能の差が少なく、かつ一般にOTよりPの感作能がすぐれていることである。この事実は結核症の血清反応を行うに当り、OTよりもPを用いる方がより目的に適する場合のあることを示すものと考えられる。

また私は前報²⁾でOTとPの免疫原性に差のみられることを指摘したが、同一分離株のOTとPの反応原性の間に差の認められた今回の成績からもこれら両者の内蔵する因子にやや差の存することが推定される。

またこれらPおよびOTの血球感作能と沈降反応原性の間には全く関連性が認められず、前報²⁾で血球感作因子と沈降反応因子とは異なること述べたが、今回のこの成績もそれを裏づけるものといえよう。

はほとんど差がなかつた。

II 患者喀痰よりの分離株について

1) 各分離株OTの間では血球感作能およびM-D反応阻止能の間に著差が認められたが、Pの間ではそのような差はなかつた。なおこれらOTあるいはPの沈降反応原性の間には異なるところがなかつた。

2) OTおよびPの反応原性と分離菌株の薬剤感受性との間には相関関係は認められなかつた。

3) 同一菌株より得られたOTとPの反応原性の間に並行関係は認められなかつた。

文 献

- 1) 山本純夫：金大結研年報，17，37，1959.
- 2) 山本純夫：金大結研年報，17，47，1959.
- 3) 早川 晋：金大結研年報，13，123，1955.
- 4) 早川 晋：金大結研年報，14，57，1956.
- 5) Middlebrook, G. & Dubos, J. : J. Exp. Med., 88, 521, 1948.
- 6) Smith, D. T. & Scott, N. B. : J. Lab. & Clin. Med., 35, 303, 1950.
- 7) Middlebrook, G. : J.

- Clin. Invest., 24, 1480, 1950.
- 8) Rothbard, S. et al : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 74, 72, 1950.
- 9) 小路 弘：アレルギー，1 (2), 16, 1952.
- 10) Smith, D. T. & Scott, N. B. : Am. Rev. Tuberc., 62, 121, 1950.
- 11) Saito, T. et al : Jap. J. Tuberc., 3, 75, 1955.
- 12) 登谷榮作：金大結研年報，16，31，1957.

第1表 薬剤耐性結核菌のOTおよび浸出液の皮膚反応比較

菌 株	接種液	OT	P _I	P _{II}
		1/10, 0.1ml	1/1, 0.1ml	1/1, 0.1ml
H ₂ -S		19 (I)	11	13 (I)
H ₂ -SM•R		19 (I)	7	15 (I)
H ₂ -IN•R		21 (I)	9	18 (I)

注: 数字は平均紅斑径, Iは硬結を示す

第2表 教室保存薬剤耐性結核菌のOTおよびPの血球感作能ならびに血球凝集反応阻止能比較

反 応 感作原または阻止原 OT または Pの別 菌 株		血 球 凝 集 反 応								血球凝集反応阻止試験											
		血 清 希 釈								対 照	阻 止 原 希 釈								対 照		
		8	16	32	64	128	256	512	1,024		10	20	40	80	160	320	640	1,280			
H ₂ -S	OT	3	3	3'	2	2'	2'	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1'	2	2	2
		1	1'	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1'	2'	2	2	2	2	2
		3	3	3	3'	2	2'	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1'	1	2	2
H ₂ -S	P _I	3	3	3'	2	2'	1	1'	0	0	0	0	0	0	0	1	2'	2	2	2	2
	P _{II}	3	3	3'	2	2'	1	1'	0	0	0	0	0	0	0	1'	1	2	2	2	2
H ₂ -SM•R	P _I	3	3	3'	2	2'	1	1'	0	0	0	0	0	1	2	2	2	2	2	2	2
	P _{II}	3	3	3'	2	2'	1	1'	0	0	0	0	0	0	0	1'	1	2	2	2	2
H ₂ -IN•R	P _I	3	3	3	3'	2	2'	1	1	1'	0	0	0	0	0	0	1	2'	2	2	2
	P _{II}	3	3	3	3'	2	2'	1	1	1'	0	0	0	0	0	0	0	0	1'	1	2

注: 血球凝集反応阻止試験は OT "H₃₇Rv" 感作血球¹⁾を使用した。

