

結核免疫に関する研究

第 19 報

結核菌体浸出液の免疫学的研究

第 2 編 菌体蒸留水浸出液の免疫原性について

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1月16日）

緒 言

前報¹⁾において、私は血球感作能、沈降反応原性および皮膚反応惹起能を指標として結核菌々体の加熱浸出液（以下 P と略記）の作製条件を検討した結果、乾燥菌体に蒸留水を加え 100°C、60分加熱後 7 日間氷室内に放置するのが最も望ましいことを指摘した。

一方 1955 年西東ら²⁾は OT 感作自家血球をウサギに静注することにより、容易にかつ高い価の抗血清を得ることを報告し、次いで小林³⁾は

OT 単独静注の抗体産生が OT 感作血球静注のそれよりも低く、かつ溶血反応が現われにくいことから、OT に対する抗体の生成機転に感作血球が大きな意義を持つことを認めた。

そこで私は前報によつて得た P の免疫原性を追求するため、P 単独およびその感作血球を静注して抗体産生状況を観察した。以下はその実験の概要である。

実験材料ならびに実験方法

- 1) 動物：2.5 kg 内外の健常ウサギで 10 倍 OT をもつてする皮膚反応陰性、かつその血清が OT 感作血球を凝集および溶血せず、OT との間に沈降反応を起さないことを確かめて使用した。
- 2) 浸出液 (P)：前報記載のごとく、蒸留水を用い 100°C 1 時間加熱後 7 日間氷室内で浸出したものを使用した。
- 3) OT：前報に記載したと同じものを使用した。
- 4) 血球および血球の感作方法：P および OT による

感作方法はすべて前報と同様である。

- 5) 免疫方法：免疫原として P 2 ml、10% P 感作血球浮遊液 5 ml、10% OT 感作血球浮遊液 5 ml および青山 B 株熱殺菌体浮遊液（菌液濃度 10mg/ml）2 ml を用いた。
- 6) 反応術式：血球凝集反応、沈降反応は前報記載のとおりで、感作血球溶血反応は西東ら²⁾の報告に従った。

実 験 成 績

I P の抗体産生能について

- 1) P 単独免疫について
P 2ml あて 3 日おきに 6 回静注したウサギの

血清反応は第 1 表のごとく、P 感作血球および OT 感作血球に対して最終凝集価 1 : 128、溶血価 1 : 64—128 であつた。（図 1 参照）沈降素価

は OT および P を反応原としてともに $\leq 1:2$ であつた。OT および P の反応原性をこの免疫血清について比較すると P が OT よりやゝ劣るかに思われた。なお血清採取の際の P および OT をもつてする皮膚反応はいずれも陰性であつた。

2) P 感作血球免疫について

P 感作血球を 3 日おきに 6 回静注して得られた血清における抗体価は第 2 表のごとく、最終凝集価、溶血価ともに P 感作血球に対し 1:1,024—2,048, OT 感作血球に対して 1:512—1,024 であつた。(図 1 参照) 沈降素価は P および OT に対してともに 1:8 であつた。また血清採取時に調べた P および OT をもつてする皮膚反応は陰性であつた。

II P の反応原性について

1) OT 感作血球免疫血清との交差反応

OT 感作血球静注により得られた抗血清について、OT 感作血球および P 感作血球に対する凝集価および溶血価を測定し、あわせて P および OT に対する沈降素価を検索した。(第 3 表) すなわち凝集価および溶血価は感作原のいずれを問わず 1:2,048 に達し、沈降素価はともに 1:8 であつた。

2) 菌体免疫血清との交差反応

熱殺菌体の浮遊液を静注して得られた抗血清について P と OT の反応原性を検討した。第 4 表のごとく P および OT それぞれの感作血球に対する最終凝集価ならびに溶血価はいずれも 1:2,048 であり、沈降素価は P および OT のいずれに対しても 1:8 であつた。

III 4 種免疫血清の OT 感作血球、P 感作血球 および菌体による交差吸収試験

以上の実験により OT 感作血球と P 感作血球の反応原性は 4 種血清 (P 単独, P 感作血球, OT 感作血球および菌による免疫血清) についてほとんど差を見出し得なかつた。そこで OT と P の抗原としての質的異同を検索するため上記 4 種血清について交差吸収試験を行つた。この成績は第 5 表, 第 6 表に示すごとく、両感作血球吸収, 菌体吸収ともに感作血球凝集ならびに溶血反応に対する抗体はよく吸収され、その間には異同を認めなかつた。ただ感作血球による吸収によつては前人の指摘のごとく沈降反応抗体は全く吸収されなかつたが、菌体による吸収によつてはすべての血清について沈降素の吸収を認めた。

総括ならびに考案

西東らの OT 感作血球免疫の一連の研究に準じ、私は前報の方法で作製した P の免疫原性を検討した結果、P およびその感作血球がいずれも血清抗体を産生することを認めた。しかも前報で血球感作原性ならびに皮膚反応原性において P が 10 倍 OT とほぼ等力価であることを述べたが、今回の実験においても P (1:1) 感作血球と OT (1:10) 感作血球がほぼ同程度の免疫原性を有することを確めた。また小林⁴⁾が OT 単独および OT 感作血球免疫で報告しているごとく、P 単独および P 感作血球免疫で血中抗体を産生するが、いずれも実験期間内には皮膚反応を陽転せしめないことを実証した。しかしながら小林は OT 単独静注による抗体産生が OT

感作血球免疫のそれよりもはなはだ低く、かつ OT 感作血球凝集素に比し溶血素の産生が特に低いと述べているのに反し、こゝに用いた P では単独静注によつてかなり低いとはいえ、ほとんど同程度の価を有する凝集素と溶血素の産生が認められたことは、OT と P の免疫原性が必ずしも全く同一でないことを示しているものと思う。

また今回用いた 4 種の免疫方法で得られた血清の有する沈降素から、抗原として用いた P と OT との間でその産生能に差を認めなかつた。また小林⁵⁾は OT 感作血球免疫と OT 単独免疫のウサギ血清について OT を反応原として沈降反応を行い、沈降素価は前者で 1:8, 後者で

1:2であつたと報告しているが、P 感作血球免疫およびP 単独免疫においても全くこれと同様な関係にあつて、P あるいはOT を反応原としてもそれぞれ1:8, 1:2を示し、OT 免疫とP 免疫時の沈降素の間に差異を見出し得なかつた。

こゝにおいてP 単独免疫、P 感作血球免疫、OT 感作血球免疫および熱殺菌体浮遊液免疫の4種血清について、OT およびP のそれぞれの感作血球ならびに菌体をもつてする交差吸収試験を行つたが、私の用いた実験方法では何らの差異も認められなかつた。両感作血球によつて沈降素がいささかも吸収されないのは小林の指摘したごとく、沈降反応の抗原抗体系は主とし

て多糖体に属するに反し、感作血球凝集反応ならびに溶血反応は登谷⁶⁾の指摘したごとく、蛋白および多糖体の両者にまたがつて介在する因子に負うためであろう。

前報でも述べたごとく、今日まで多くの研究者によつて種々の菌体浸出液が作られているが、それらの免疫原性に言及した報告にはいまだ接しない。今回の実験はP とOT との免疫原性の間に何らかの差異の存在することを示唆しているが明らかにこれを実証することはできなかつた。しかしながら本実験によつてP がそれ単独でも、また血球に感作されても充分免疫原性を持つことを立証し得たのは注目に値するものと思う。

結 論

1) P およびP 感作血球が十分に免疫原性を有し、P 単独免疫によつてはOT 単独免疫におけるように溶血反応が出現し難いということとはなかつた。

2) P 感作血球の抗体産生能はOT 感作血球および熱殺菌体免疫に比して遜色はなかつた。しかしこれらに比しP 単独の抗体産生能はかなり劣つた。

3) P 単独、P 感作血球、OT 感作血球ならびに熱殺菌体浮遊液のそれぞれの免疫血清を用

いてP およびOT の反応原性を比較すると、その間に差は認められず、かつ、これら4種免疫血清のOT およびP 感作血球による交差吸収試験の結果、P とOT の免疫原性の間に相違を認めることはできなかつた。また菌体をもつて吸収すればこれら4種血清による反応はすべて陰性となつた。

4) 沈降素産生については、熱殺菌体免疫が最もよく、OT 感作血球免疫がこれに次ぎ、続いてP 感作血球、P 単独免疫の順であつた。

文 献

- 1) 山本純夫：金大結研年報，17(上)，37，1959.
- 2) Saito, T. et al. : Jap. J. Tbc., 3, 75, 1955.
- 3) 小林 博：金大結研年報，14(中)，187，1956.
- 4) 小林博：金大結研年報，14

- (中)，177，1956.
- 5) 小林博：金大結研年報，15(上)，79，1957.
- 6) 登谷榮作：金大結研年報，16(上)，31，1958.

第1表 P单独静注の免疫原性試験

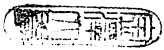
ウサギ番号	抗原の種類	濃度	感作血球凝集反応								溶血反応								沈降反応			皮膚反応
			血清稀釈								血清稀釈								血清稀釈			
			8	16	32	64	128	256	512	C	8	16	32	64	128	256	512	C	1:2	1:4	1:8	
No. 31	P OT	1:1 1:10	3' 3'	3 3	3 3	2' 2'	1 1	0 0	0 0	## ##	## ##	## ##	## ##	± ±	- +	- -	- -	+	±	-	2×2 3×3	
No. 32	P OT	1:1 1:10	3 3'	3 3	2 3'	2' 2'	1 1	1' 1'	0 0	## ##	## ##	## ##	## ##	± +	± ±	- -	- -	± +	- ±	- -	0 0	
No. 33	P OT	1:1 1:10	3' 3'	3 3'	3' 3	2' 2'	1 1	1' 1'	0 0	## ##	## ##	## ##	## ##	± +	± ±	- -	- -	± +	- ±	- -	2×2 2×2	
No. 34	P OT	1:1 1:10	3' 3	3' 3	2 2'	2' 2'	1 1	1' 1'	0 0	## ##	## ##	## ##	## ##	± +	± +	- -	- -	± +	± ±	- -	0 2×3	

C : 血清を含まない生理食塩水

第2表 P感作血球の免疫原性試験

ウサギ番号	抗原の種類	濃度	感作血球凝集反応								溶血反応								沈降反応				皮膚反応	
			血清稀釈								血清稀釈								血清稀釈					
			32	64	128	256	512	1,024	2,048	4,096	C	32	64	128	256	512	1,024	2,048	4,096	C	4	8		16
No. 9	P OT	1:1 1:10	3 3	3' 3	3' 3'	3' 3'	2 2'	2' 1	1 0	0 0	## ##	## ##	## ##	## ##	## ##	## ##	± +	- -	+	+	-	-	0 2×3	
No. 10	P OT	1:1 1:10	3' 3	3' 3	2 2	2' 2'	1 1	1 0	1' 0	0 0	## ##	## ##	## ##	## ##	## ##	## ##	± +	± ±	- -	## ##	± +	± ±	- -	0 2×2
No. 11	P OT	1:1 1:10	3 3	2 3'	2 2'	2' 2'	1 1	1 0	1' 0	0 0	## ##	## ##	## ##	## ##	## ##	## ##	± ±	- -	± +	± +	- -	- -	0 2×2	
No. 12	P OT	1:1 1:10	3' 3	3 3'	3' 3'	2 2'	2' 2'	1 1'	1 0	0 0	## ##	## ##	## ##	## ##	## ##	## ##	± ±	- -	± +	± +	± -	- -	0 2×2	

C : 第1表に同じ



第 3 表 OT 感作血球静注免疫血清に対する P および OT の反応原性試験

抗原の種類	感作血球凝集反応											溶血反応									沈降反応				皮膚反応			
	血清稀釈											血清稀釈									血清稀釈							
	8	16	32	64	128	256	512	1,024	2,048	4,096	C	8	16	32	64	128	256	512	1,024	2,048	4,096	C	2	4		8	16	
P	3	3	3'	3'	2	2	2	2	1	0	0	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	±	-	##	+	+	-	2×2
OT	3	3	3	3'	3'	2	2	2	1	0	0	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	+	-	##	+	+	-	3×3

C : 第 1 表と同じ

第 4 表 熱殺菌体浮遊液静注免疫血清に対する P および OT の反応原性試験

ウサギ番号	抗原の種類	抗原の濃度	感作血球凝集反応											溶血反応									沈降反応				
			血清稀釈											血清稀釈									血清稀釈				
			32	64	128	256	512	1,024	2,048	4,096	C	32	64	128	256	512	1,024	2,048	4,096	C	2	4	8	16	32		
No. 17	P	1:1	2	3'	3	3'	2	1	1	0	0	##	##	##	##	##	##	+	-	-	##	##	+	±	-		
	OT	1:10	3	3	3'	2	2'	1	1	1'	0	##	##	##	##	##	##	##	±	-	+	+	+	-	-		
No. 18	P	1:1	3	3	3	3'	2	1	1	1'	0	##	##	##	##	##	##	##	+	±	-	##	+	+	-	-	
	OT	1:10	3	3	3	3	3'	2'	1	1'	0	##	##	##	##	##	##	##	-	-	+	+	+	-	-		

C : 第 1 表と同じ

第 5 表 4種免疫血清における OT 感作血球および P 感作血球の交差吸収試験

免疫血清の種類	吸収血球 の感作原	反 応 反応 血球の 感作原ま たは沈降 反応の抗原	感 作 血 球 凝 集 反 応										感 作 血 球 溶 血 反 応										沈 降 反 応				
			血 清 稀 積										血 清 稀 積										血 清 稀 積				
			8	16	32	64	128	256	512	1:1,024	1:2,048	1:4,096	8	16	32	64	128	256	512	1:1,024	1:2,048	1:4,096	2	4	8	16	32
1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:			
P 単 独 静 注	•	P OT	3' 3 3 2 1 0 0 0 0 0	3 3 3 2 2' 1' 0 0 0 0	## ## ## ## ± - -	## ## ## ## + ± -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -		
	P	P OT	1 1' 0 0	2' 1 0 0	## + ± -	## + ± -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -			
	OT	P OT	1 1' 1' 0	2' 1' 1' 0	+ + ± -	+ + ± -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -	+ ± - -			
P 感 作 血 球 静 注	•	P OT	3' 3' 3 3' 3' 3' 2 2' 1 0	3 3 3 3 3' 2 2' 1 1' 0	## ## ## ## ## ## ## ## + ± ±	## ## ## ## ## ## ## ## + ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±			
	P	P OT	1' 1' 0 0	1' 0 0 0	## ± - -	## ± - -	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±			
	OT	P OT	2' 1 0 0	2 1 1' 0	+ + ± -	## - - - -	+ + ± -	+ + ± -	+ + ± -	+ + ± -	+ + ± -	+ + ± -	+ + ± -	+ + ± -	+ + ± -	+ + ± -	+ + ± -	+ + ± -	+ + ± -	+ + ± -	+ + ± -	+ + ± -	+ + ± -	+ + ± -			
OT 感 作 血 球 静 注	•	P OT	3 3 3 3' 3' 2 2 2' 1 0	3 3 3 3 3 2 2 2' 1 0	## ## ## ## ## ## ## ## + ± -	## ## ## ## ## ## ## ## + ± -	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±			
	P	P OT	1' 0 0 0 0	1' 0 0 0 0	## ± ± -	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±			
	OT	P OT	2 1 0 0 0	2 1 1' 1' 0	## + ± -	## + ± -	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±			
青山 B 熱 殺 菌 体 静 注	•	P OT	2 2 2 3' 3' 3' 2' 1 1 0	3' 3' 3 3 3' 2 2' 1 1 1'	## ## ## ## ## ## ## ## + ± -	## ## ## ## ## ## ## ## + ± -	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±			
	P	P OT	1' 1' 0	1 0 0	## ± - -	## ± - -	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±			
	OT	P OT	1 1' 0	1 0 0	+ + ± -	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±	+ ± ± ±			

第 6 表 4種免疫血清における菌体による吸収試験

免疫血清の種類			反 応 菌体による吸収の有無 反応血球の感作原		感 作 血 球 凝 集 反 応									感 作 血 球 溶 血 反 応									沈 降 反 応			
					血 清 稀 積									血 清 稀 積									血 清 稀 積			
					8	16	32	64	128	256	512	1:1,024	C	8	16	32	64	128	256	512	1:1,024	1:2,048	C	2	4	8
P 単 独 静 注	•	P	3	3	3	2	1	0	0	0	0	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	±	-	-	
		OT	3	3	3	2	1	1'	0	0	0	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	
P 感 作 血 球 静 注	•	P	3'	3	3'	3'	2	1	1'	0	0	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	±	
		OT	3	3	3	3'	3'	2'	1	0	0	+	+	+	+	+	+	±	-	-	-	+	+	+	-	
OT 感 作 血 球 静 注	•	P	3	3	3	3	3'	2	1	0	0	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	±	
		OT	3	3	3	3	3'	3'	2'	1'	0	+	+	+	+	+	+	+	±	-	-	+	+	+	-	
熱 殺 菌 体 静 注	•	P	2	3	3	3	2	1	1	0	0	+	+	+	+	+	+	+	±	-	-	+	+	+	±	
		OT	3	3'	3'	3'	2	2'	1	1'	0	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	
	吸 収	P	0	0	0					0	-	-	-	-	-					-	-	-	-	-		
		OT	0	0	0					0	±	-	-	-	-					-	-	-	-	-		

• 血清を菌体で吸収しなかつたことを示す。

第 1 図 ウサギの免疫方法の相違による感作赤血球凝集反応抗体価の消長

