

結核免疫に関する研究

第18報

結核症血清の電気泳動学的研究

第2篇 結核免疫ウサギ血清についての観察

金沢大学結核研究所細菌免疫部（主任：柿下正道教授）

政 岡 滋 実

（受付：昭和33年10月19日）

緒 言

私は前篇¹⁾で肺結核患者の血清蛋白像と血中抗体の関連性について観察した結果を報告し、抗体は γ -Globulin (以下 γ -G と略記) に存在するものであろうと推論した。

今回は更に結核生菌または死菌ならびに OT 感作血球で免疫したウサギについてその血清蛋

白像と血中抗体との関係を追究するとともに、OT 感作血球免疫ウサギ血清を塩折法^{2)~5)}により分画して得られた血清蛋白分層と抗体との関係を検討した。

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) 実験動物

体重 2.5kg 内外の健常ウサギで、10倍稀釀 OT による皮膚反応陰性、かつその他本実験で行う各種反応が非特異性に現われないことを確かめた後実験に供した。

2) 実験群の組分、感染方法および免疫方法

A群：ヒト型結核菌 H₃₇Rv 株の Sauton 培地 3 週間培養の菌を吸湿、秤量、磨碎した後、生理的食塩水で 1mg/ml の浮遊液となし、その 1ml ずつを 4 頭のウサギの耳静脈に注射した。

B群：ヒト型結核菌 H₃₇Rv 株の 10mg/ml の流動パラフィン浮遊液を調製し、80°C、1 時間加熱殺菌し（流パラ・ワクチンと略記）接種前に強く振とうし、その 1.5ml ずつを 4 頭のウサギの胸部皮下に注射した。

C群：西東⁶⁾の法に準じ OT 感作ウサギ血球の 10% 浮遊液 5.0ml を 3 日おきに 5 回耳静脈に注射した。

3) 血清蛋白像および血清抗体価の測定

血清蛋白像の測定は前篇¹⁾記載の通りであつて、血清抗体価の測定は西東⁶⁾らの方法に準じた。採血は注射前および A群と B群にあつては注射後 1 週ごとに、C群にあつては注射前および最終注射（5 回）3 日後に行い検査に供した。

4) 吸収試験

i) 結核菌体による吸収試験

A群と B群はともに 6 週後、C群は 5 回注射後の血清をヒト型結核菌 H₃₇Rv 株死菌によつて吸収し検査に供した。吸収は前篇¹⁾記載の方法に準じて行つた。

ii) 感作血球による吸収試験

C群の 5 回注射後採取した血清に OT 感作血球のあらかじめ計算された量を加え、37°C の温浴中に 2 時間おいた後、1,500 r.p.m. で 5 分間遠心して血清を分離、以下同様の操作を 2 回繰り返して吸収の完全を計つた。

5) 使用「ツ」および「ツ」反応の実施

教室で作製した OT を 10 倍に稀釀し、その 0.1ml を背部皮内に注射した。

6) 割検および臓器内結核菌定量培養（第 6 表参照）

A 群については 6 週目の実験後剖検し、肉眼的変化を検討するとともに臓器内の菌は小川¹⁰⁾の法に準じて定量培養を行い 4 週後に判定した。

7) 塩折法

C 群について 5 回注射後全採血して血清を分離し、塩折法によりその血清蛋白の分画を行つた。すなわち

血清を 2 倍に稀釀し 4.6 に pH を修正した後 136gm

/L の割に $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ を加え、遠心して得られた沈査、更にその上清の pH を 7.0 に修正して 210gm/L の割に $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ を加え、遠心して得られた沈査は電気泳動法でそれぞれおおよそ Albumin (以下 Alb と略記) および γ -G と推定された。

更にその上清を透析後これに 210gm/L の割に $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ を加えて沈殿したものは α -Globulin (以下 α -G と略記) および β -Globulin (以下 β -G と略記) の混在せるものと推定された。

また別に血清に $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ を 270gm/L の割に加えて沈殿したものは全 Globulin 分画を含んでいた。

実験成績

I. 「ツ」反応の消長、血清抗体価の推移ならびに血清蛋白像の変動（第 1 表参照）

A 群では感染後 2 週、B 群では免疫後 2 ～ 3 週に全例「ツ」反応の陽転を示したが C 群は終始陰性であつた。

A 群および B 群ではいずれも 2 ～ 3 週後に抗体の出現を認め、血清蛋白像では Alb の減少と Globulin、特に γ -G の増加を認めた。以後週を追うに従つて、抗体価の上昇および他の Globulin に比して γ -G の著明な増加を見た。すなわち

6 週後には血清抗体価は A および B 群ともそれぞれ最高を示し、A 群では凝集価 1:128、溶血価 1:320、B 群では凝集価 1:640、溶血価 1:1,280 で、 γ -G も感染および免疫前より A 群では 0.92gm/dl、B 群では 0.52gm/dl の著明な増加が認められた。

なお血清総蛋白量はわずかに増し、 α - および β -G もわずかであるが増加した。

また C 群においては第 5 回注射後凝集価、溶血価とも最高（凝集価 1:717、溶血価 1:2,253）を示した。

一方血清蛋白像においては総蛋白量には著変なく、分層としてはわずかな Alb の減少と γ -G の増加を認めた。しかし γ -G の増加は 0.17gm/dl で前 2 群に比してはるかに少な

く、他の Globulin の変動は認められなかつた。

II. 吸収試験（第 2、3、4 表参照）

A および B 群について最高の血清抗体価を示した注射 6 週後の血清を結核死菌で吸収すると γ -G は A 群では 0.43gm/dl B 群では 0.39gm/dl の減少を認め、感作血球凝集および溶血反応とも陰性となつた。

C 群の 5 回静注後 3 日目の血清を感作血球で吸収すると 0.24gm/dl の減少を認めた。この減少は該血清を結核死菌で吸収した場合の減少 0.25gm/dl とほとんど同程度であつた。

なおいずれも吸収しても感作血球凝集および溶血反応は完全に消失した。

しかし OT 感作血球で吸収を行つた場合 β -G が γ -G より著明に減少した例を認めた。

III. 感作血球免疫ウサギの血清蛋白分層による感作血球凝集ならびに溶血反応

前項の吸収試験によつて、前篇において指摘したごとく、大部分の血清抗体は γ -G 中に存在することが明らかとなつたので、抗体価の最も高い OT 感作血球免疫ウサギ血清について塩折法により血清蛋白分層を分画し、抗体の所在を追究した。すなわち

得られた各蛋白分層の感作血球凝集能なら

びに溶血能を検した結果第5表のごとく γ -G分屑のみはほとんど原血清と同様の反応惹起能を示した。このことは西東らのいう抗

OT抗体が γ -G分屑中に存することを明示したものといえる。

総括ならびに考按

Middlebrook-Dubos反応が結核症における血中抗体の証明法のうち、その容易さと確実性においてきわめてすぐれていることは周知のことであるが、私は前篇で肺結核患者の血清蛋白像の変動を観察し、Middlebrook-Dubos抗体は γ -G分屑中に存在するが、増加せる γ -Gのすべてが該抗体でなく、その占める部分は増加 γ -Gの一部に過ぎない事を報告した。今回は更にヒト型結核菌H₃₇R_V株感染ウサギ、結核死菌流パラ浮遊液免疫ウサギおよび西東¹¹⁾らの方法によつたOT感作血球免疫ウサギについてその血清蛋白中の γ -G量とその中に含まれる抗体量との関係を追究した。

すなわちH₃₇R_V株感染群および流パラ・ワクチン免疫群においては注射後2~3週より血中抗体の産生および血清蛋白像の変動を認め、週を追うに従つて抗体価は上昇、6週後最高(凝集価1:128、溶血価1:320、および凝集価1:640、溶血価1:1,280)となり、血清蛋白像においてはAlbの減少、 γ -Gの増加が著明となつた。

一方OT感作血球免疫群においては第2回注射後より抗体産生を認め、第5回注射3日後には凝集価1:717、溶血価1:2,253と最高を示した。しかも血清蛋白像においてはAlbの減少、 γ -Gの増加を認めたがその程度は前2群に比し軽く他の分屑は有意の変動を示さなかつた。

次に結核死菌による吸収試験においては、3群とも凝集反応および溶血反応の消失と同時に γ -Gの著明な減少を認めた。しかも感作血球免疫群における γ -Gの増加は前2群に比し少なかつたが吸収による減少度は増加度に比例し

た。

更にOT感作血球免疫群についてOT感作血球を用いて吸収試験を行つたが、死菌吸収による場合と全く同様な γ -Gの減少、および凝集反応と溶血反応の消失を見た。宮永¹²⁾、Witmer¹³⁾らによると結核患者血清中の感作血球凝集素は γ -G中に含まれていることであるが、私はMiddlebrook-Dubos抗体価の最も高かつたOT感作血球免疫ウサギの全血を採血し、その血清について塩析法により蛋白分画を行い、各分屑について凝集反応および溶血反応を行つて抗体の所在を直接的に追究した。その結果は γ -Gおよび γ -Gを含む分屑にのみ反応の起るのを認め、 γ -G中に抗体の存在することを実証し得た。

かくしてヒト型結核菌H₃₇R_V株感染群あるいは流パラ・ワクチン免疫群とOT感作血球免疫群における成績を比較対比するとOT感作血球に比し菌体は抗原性が複雑であるためか菌体注射による増加 γ -GにはKlee¹⁴⁾のいう随伴性のGlobulinが多分に含まれている事を推定させるとともに、前篇に述べたごとく特異抗体は γ -G中に含まれていることが観取された。しかしながらOT感作血球免疫ウサギ血清のOT感作血球吸収の場合、 β -Gの増加が著明でなかつたにかかわらず γ -Gより以上に減少した例があり、このことは塩析分画法で得られた β -G分屑によるMiddlebrook-Dubos反応の陰性成績と考え合せ、非定型抗体混入の問題をも追究する必要のあることを示すものと考えられる。

結

ヒト型結核菌H₃₇R_V株感染ウサギ、同死菌流

論

動パラフィン浮遊液免疫ウサギおよびOT感作

血球免疫ウサギにおいて Middlebrook-Dubos 抗体価の上昇した時期に前 2 群の血清については同結核死菌、後者では同死菌あるいは OT 感作血球でそれぞれ吸収試験を行い、血清抗体価の変動と電気泳動法による血清蛋白像との関係を観察し、あわせて塩折法により分画した感作血球免疫血清の蛋白各分層を用いて Middlebrook-Dubos 反応を行つて次の結果を得た。

- 1) 生菌感染および流バラ死菌免疫ウサギにおいては抗体価の上昇とともに Alb の減少および著明な γ -G の増加を認めた。なお血清総蛋白量、 α および β -G もわずかの増加を認めた。
- 2) OT 感作血球免疫ウサギにおいても同様であつたが上述の 2 群に比すると抗体価の上昇の割に γ -G の増加は著明でなかつた。なお α および β -G は特記すべき変動を示さ

なかつた。

- 3) 以上 3 群の血清を結核死菌で吸収すると、いずれも γ -G の減少および抗体の消失を認めた、しかし OT 感作血球免疫ウサギにおける γ -G の減少度は他の 2 群より少なかつた。また OT 感作血球免疫ウサギ血清を OT 感作血球で吸収すると死菌吸収による場合と全く同程度な γ -G の減少を認め、かつ免疫による γ -G の増加度は吸収による減少度と比例した。
- 4) OT 感作血球免疫ウサギ血清の各蛋白分層中、 γ -G を含む分層にのみ Middlebrook-Dubos 反応惹起能が認められた。
- 5) 以上により結核症における定型抗体の大部分は γ -G に存在するが、増加した γ -G の一部に過ぎないことを推定し得た。

文

- 1) 政岡滋実： 金大結研年報, 16(下), 386, 1959.
- 2) 広田猛夫：生物物理化学の領域に於ける蛋白。
- 3) 緒方富雄：血清学実験法。
- 4) 三好和夫：日本臨床, 9, 528, 1951.
- 5) 斎藤正行、吉川春寿：日本医事新報, 1277, 1229; 1279, 1311, 1948.
- 6) Cohn, E. J., McMeekin, T. L., Oncley, J. L., Newell, J. M., Hughes, W. L., Jr. : J. Am. Chem. Soc., 62, 3386, 1940. 7)

文献

- Wolfson, W. Q., Chon, C. : Am. J. Clin. Path., 18, 723, 1948.
- Cohn, E. J. : Physiologic. Rev., 5, 349, 1925.
- Saito, T. et al. : Jap. J. Tuberc., 3, 75, 1955.
- 小川辰次：結核, 24, 19, 1949.
- 宮永圭基男：日本臨床結核, 15, 230, 1956.
- Witmer, R. : Schweiz. Med. Wschr., 16, 449, 1952.
- Klee, Ph. et al. : Dtsch. Med. Wschr., 77, 525, 1952.

Table 1. No. 1. Changes of serum protein content and antibody titer
of rabbits infected with human type tubercle bacilli "H₃₇Rv"

rabbit No.	observations weeks after infection	TP gm/dl	fraction of serum protein gm/dl (%)				A/G	tuber- culin reaction	antibody titer	
			Alb	α-G	β-G	γ-G			hemag- glutina- tion test	hemoly- sis test
1	before infection	6.12	4.25 (69.4)	0.26 (4.2)	0.77 (12.5)	0.85 (13.9)	2.3	0	0	0
	2 weeks	5.90	3.75 (63.6)	0.27 (4.6)	0.80 (13.6)	1.07 (18.2)	1.8	12×11	1 : 32	1 : 64
	4 weeks	6.34	3.39 (53.5)	0.43 (7.0)	0.96 (15.1)	1.55 (24.4)	1.2	15×14	1 : 64	1 : 128
	5 weeks	6.12	3.13 (51.1)	0.49 (8.0)	0.91 (14.8)	1.60 (26.1)	1.0	20×18	1 : 128	1 : 256
	6 weeks	6.23	2.82 (45.2)	0.52 (8.3)	1.12 (17.9)	1.78 (28.6)	0.8	24×20	1 : 128	1 : 256
2	before infection	7.20	4.85 (67.3)	0.30 (4.1)	0.96 (13.3)	1.10 (15.3)	2.1	0	0	0
	2 weeks	7.09	4.36 (61.5)	0.34 (4.8)	1.09 (15.4)	1.30 (18.3)	1.6	10×10	1 : 16	1 : 32
	4 weeks	7.31	4.23 (57.8)	0.36 (4.9)	1.15 (15.7)	1.58 (21.6)	1.4	20×18	1 : 64	1 : 128
	5 weeks	7.20	3.68 (51.1)	0.47 (6.5)	1.17 (16.3)	1.88 (26.1)	1.0	22×21	1 : 64	1 : 256
	6 weeks	7.31	3.61 (49.4)	0.39 (5.3)	1.17 (16.0)	2.14 (29.3)	1.0	25×25	1 : 128	1 : 256
3	before infection	5.90	3.99 (67.7)	0.29 (4.9)	0.76 (12.9)	0.86 (14.5)	2.1	0	0	0
	2 weeks	6.12	3.94 (64.4)	0.41 (6.7)	0.83 (13.5)	0.94 (15.4)	1.8	11×12	1 : 32	1 : 128
	4 weeks	6.01	3.62 (60.3)	0.35 (5.1)	0.88 (14.7)	1.15 (19.1)	1.5	18×15	1 : 128	1 : 256
	5 weeks	6.34	3.53 (55.6)	0.41 (6.5)	0.94 (14.8)	1.46 (23.1)	1.3	20×21	1 : 128	1 : 256
	6 weeks	6.23	3.21 (51.5)	0.42 (6.8)	0.95 (15.3)	1.64 (26.4)	1.1	25×25	1 : 128	1 : 512
4	before infection	6.34	4.00 (63.1)	0.34 (5.3)	0.92 (14.5)	1.08 (17.1)	1.7	0	0	0
	2 weeks	6.77	3.80 (56.1)	0.41 (6.1)	1.16 (17.1)	1.40 (20.7)	1.1	15×12	1 : 32	1 : 32
	4 weeks	6.12	3.35 (54.8)	0.37 (6.1)	0.97 (15.9)	1.42 (23.2)	1.2	20×20	1 : 64	1 : 128
	5 weeks	6.45	3.29 (51.0)	0.43 (6.7)	1.00 (15.6)	1.73 (2.68)	1.0	25×25	1 : 64	1 : 128
	6 weeks	6.23	2.78 (44.6)	0.44 (7.1)	1.00 (16.1)	2.00 (32.2)	0.9	30×28	1 : 128	1 : 256

mean value on 4 animals

observations weeks after infection	TP gm/dl	fraction of serum protein gm/dl (%)				antibody titer		
		Alb	α-G	β-G	γ-G	hemagglu- tination test	hemoly- sis test	
before infection	6.39	4.27 (66.9)	0.30 (4.6)	0.85 (13.3)	0.97 (15.2)	0	0	
2 weeks	6.47	3.96 (61.4)	0.36 (5.6)	0.97 (13.7)	1.18 (18.2)	1 : 28	1 : 64	
4 weeks	6.45	3.65 (56.6)	0.38 (6.0)	0.99 (15.4)	1.43 (22.1)	1 : 80	1 : 135	
5 weeks	6.53	3.41 (52.2)	0.45 (6.9)	1.01 (15.4)	1.67 (25.5)	1 : 96	1 : 224	
6 weeks	6.50	3.11 (47.7)	0.44 (6.9)	1.06 (16.3)	1.89 (29.1)	1 : 128	1 : 320	

Table 1. No. 2. Changes of serum protein content and antibody titer
of rabbits inoculated with heat-killed paraffin oil human type tubercle bacill "H₃₇Rv"

rabbit No.	observations weeks after inoculation	TP gm/dl	fraction of serum protein gm/dl (%)				A/G	tuber- culin reaction	antibody titer	
			Alb	α-G	β-G	γ-G			hemag- glutina- tion test	hemoly- sis test
5	before inoculation	6.23	3.86 (60.2)	0.24 (3.9)	0.80 (12.8)	1.44 (23.1)	1.8	0	0	0
	2 weeks	6.34	3.46 (54.6)	0.29 (4.5)	0.86 (13.6)	1.73 (27.3)	1.2	11×11	1: 8	1: 8
	4 weeks	6.55	3.44 (52.5)	0.33 (5.0)	0.98 (15.0)	1.80 (27.5)	1.1	14×15	1: 512	1:1,024
	5 weeks	6.45	3.23 (50.0)	0.43 (6.7)	0.75 (11.7)	2.04 (31.6)	1.0	20×18	1: 512	1:1,024
	6 weeks	6.55	3.28 (50.0)	0.35 (5.4)	0.92 (14.1)	1.99 (30.4)	1.0	22×25	1: 512	1:2,048
6	before inoculation	5.78	3.97 (68.6)	0.41 (7.0)	0.67 (11.6)	0.74 (12.8)	2.2	0	0	0
	2 weeks	5.68	3.55 (62.5)	0.47 (8.3)	0.71 (12.5)	0.95 (16.7)	1.7	11×9	1: 16	1: 16
	4 weeks	5.90	3.59 (60.9)	0.48 (7.6)	0.77 (13.1)	1.09 (18.4)	1.5	13×15	1: 256	1: 512
	5 weeks	6.12	3.63 (59.3)	0.51 (8.3)	0.80 (13.0)	1.19 (19.4)	1.5	20×22	1: 512	1:2,048
	6 weeks	6.34	3.65 (57.6)	0.55 (8.7)	0.86 (13.5)	1.28 (20.2)	1.3	25×24	1: 512	1:2,048
7	before inoculation	6.01	4.07 (67.7)	0.39 (6.5)	0.68 (11.3)	0.87 (14.5)	2.1	0	0	0
	2 weeks	6.23	3.88 (62.0)	0.37 (6.0)	0.81 (13.0)	1.18 (19.0)	1.6	9×7	1: 16	1: 32
	4 weeks	6.12	3.48 (56.9)	0.51 (8.3)	0.85 (13.9)	1.28 (20.9)	1.5	12×12	1: 512	1:1,024
	5 weeks	6.34	3.63 (57.3)	0.47 (7.4)	0.84 (13.2)	1.40 (22.1)	1.3	15×16	1: 512	1:2,048
	6 weeks	6.45	3.52 (54.6)	0.49 (7.6)	0.88 (13.6)	1.56 (24.2)	1.2	20×22	1:1,024	1:4,096
8	before inoculation	5.68	3.61 (63.6)	0.39 (6.8)	0.78 (13.7)	0.90 (15.9)	1.7	0	0	0
	2 weeks	5.90	3.43 (58.2)	0.37 (6.3)	0.99 (18.7)	1.11 (18.8)	1.4	12×12	1: 64	1: 128
	4 weeks	6.12	3.64 (59.4)	0.48 (7.8)	0.95 (15.6)	1.05 (17.2)	1.5	15×13	1: 512	1:1,024
	5 weeks	5.99	3.45 (57.6)	0.46 (7.6)	0.11 (15.2)	1.17 (19.6)	1.4	21×16	1:1,024	1:4,096
	6 weeks	6.23	3.59 (57.7)	0.48 (7.7)	0.96 (15.4)	1.20 (19.2)	1.4	22×30	1:1,024	1:4,096

mean value on 4 animals

observations weeks after inoculation	TP gm/dl	fraction of serum protein gm/dl (%)				antibody titer	
		Alb	α-G	β-G	γ-G	hemagglu- tination test	hemoly- sis test
before inoculation	5.93	3.88 (65.0)	0.36 (6.1)	0.73 (12.4)	0.99 (16.6)	0	0
2 weeks	6.04	3.58 (59.3)	0.38 (6.3)	0.84 (13.9)	1.24 (20.5)	1: 26	1: 46
4 weeks	6.17	3.54 (57.4)	0.45 (7.2)	0.89 (14.4)	1.31 (21.0)	1: 384	1: 871
5 weeks	6.23	3.49 (56.1)	0.47 (7.5)	0.83 (13.3)	1.45 (23.2)	1: 448	1:1,280
6 weeks	6.39	3.51 (55.0)	0.47 (7.4)	0.91 (14.2)	1.51 (23.5)	-1: 640	1:1,280

Table 1. No. 3. Changes of serum protein content and antibody titer
of rabbits injected with tuberculin-sensitized red blood cells

rabbit No.	observations times of injection	TP gm/dl	fraction of serum protein gm/dl (%)				A/G	tuber- culin reaction	antibody titer	
			Alb	α -G	β -G	γ -G			hemag- glutina- tion test	hemoly- sis test
9	before injection	6.98 (66.3)	4.63 (5.8)	0.40 (12.5)	0.87 (15.4)	1.07 (15.4)	1.97	0	0	0
	2	7.09 (66.5)	4.71 (5.7)	0.40 (12.6)	0.89 (15.2)	1.08 (16.7)	1.97	0	1: 64	1: 64
	4	6.88 (65.6)	4.51 (5.9)	0.41 (11.8)	0.81 (16.7)	1.15 (16.7)	1.91	0	1: 256	1: 512
	5	6.98 (64.2)	4.48 (5.4)	0.38 (12.5)	0.87 (17.9)	1.25 (17.9)	1.95	0	1: 512	1:1,024
10	before injection	5.68 (63.2)	3.59 (4.1)	0.23 (14.3)	0.81 (18.4)	1.05 (18.4)	1.72	0	0	0
	2	5.90 (61.4)	3.62 (4.5)	0.27 (14.7)	0.87 (19.4)	1.14 (19.4)	1.56	0	1: 32	1: 128
	4	6.01 (58.5)	3.52 (4.6)	0.28 (15.4)	0.93 (21.5)	1.29 (21.5)	1.41	0	1: 512	1:1,024
	5	5.68 (58.2)	3.31 (4.9)	0.28 (15.6)	0.89 (21.3)	1.21 (21.3)	1.39	0	1:1,024	1:2,048
11	before injection	6.12 (58.8)	3.60 (4.3)	0.26 (15.2)	0.93 (21.7)	1.33 (21.7)	1.43	0	0	0
	2	6.12 (58.8)	3.60 (3.2)	0.20 (15.9)	0.97 (22.2)	1.36 (22.2)	1.42	0	1: 64	1: 256
	4	6.34 (56.9)	3.61 (4.6)	0.29 (15.4)	0.98 (23.1)	1.46 (23.1)	1.32	0	1: 512	1: 512
	5	6.23 (57.1)	3.56 (4.1)	0.26 (14.3)	0.89 (24.5)	1.53 (24.5)	1.33	0	1:1,024	1:2,048
12	before injection	5.36 (64.7)	3.47 (7.8)	0.42 (11.8)	0.63 (15.7)	0.84 (15.7)	1.83	0	0	0
	2	5.25 (65.8)	3.45 (7.9)	0.41 (10.5)	0.55 (15.8)	0.83 (15.8)	1.92	0	1: 32	1: 256
	4	5.36 (63.8)	3.42 (6.4)	0.34 (12.8)	0.69 (17.0)	0.91 (17.0)	1.59	0	1: 512	1:1,024
	5	5.47 (63.5)	3.42 (6.8)	0.37 (12.5)	0.68 (18.2)	1.00 (18.2)	1.67	0	1: 512	1:2,048
13	before injection	5.47 (60.0)	3.28 (6.7)	0.37 (15.5)	0.85 (17.8)	0.97 (17.8)	1.50	0	0	0
	2	5.36 (59.5)	3.19 (6.0)	0.32 (15.5)	0.83 (19.0)	1.02 (19.0)	1.47	0	1: 64	1: 256
	4	5.36 (59.8)	3.21 (6.6)	0.35 (15.2)	0.81 (18.4)	0.99 (18.4)	1.49	0	1: 512	1:1,024
	5	5.47 (58.4)	3.19 (7.1)	0.39 (14.3)	0.78 (20.2)	1.10 (20.2)	1.40	0	1: 512	1:4,096

mean value on 4 animals

observations times of injection	TP gm/dl	fraction of serum protein gm/dl (%)				antibody titer	
		Alb	α -G	β -G	γ -G	hemagglu- tination test	hemoly- sis test
before injection	5.92 (62.6)	3.72 (5.7)	0.34 (13.9)	0.82 (17.8)	1.05 (17.8)	0	0
2	5.94 (62.4)	3.72 (5.5)	0.32 (13.8)	0.82 (18.3)	1.09 (18.3)	1: 64	1: 240
4	5.79 (60.9)	3.65 (5.6)	0.33 (14.1)	0.84 (19.3)	1.16 (19.3)	1: 576	1:1,024
5	5.97 (60.1)	3.59 (5.7)	0.34 (13.8)	0.82 (20.4)	1.22 (20.4)	1: 717	1:2,253

Table 2. Absorption test with heat-killed tubercle bacilli of the serum of rabbits infected with human type tubercle bacilli "H₃₇ Rv"

—Changes of serum protein content and antibody titer—

rabbit No.	absorption	TP gm/dl	Alb gm/dl (%)	α -G gm/dl (%)	β -G gm/dl (%)	γ -G gm/dl (%)	change of γ -G content	antibody titer	hemagglu- tination test	hemoly- sis test
								tinntation test	hemagglu- tination test	hemoly- sis test
1	before	6.23	2.82 (45.2)	0.52 (8.3)	1.12 (17.9)	1.78 (28.6)		1 : 128	1 : 256	
	after	5.47	2.80 (51.2)	0.44 (8.1)	0.89 (16.3)	1.33 (24.4)	-0.45 (-4.2)	0	0	
2	before	7.31	3.61 (49.4)	0.39 (5.3)	1.17 (6.0)	2.14 (29.3)		1 : 128	1 : 256	
	after	6.98	3.64 (52.1)	0.44 (6.3)	1.09 (15.6)	1.81 (26.0)	-0.33 (-3.3)	0	0	
3	before	6.23	3.21 (51.5)	0.42 (6.8)	0.95 (15.3)	1.64 (26.4)		1 : 128	1 : 512	
	after	5.47	3.22 (58.9)	0.42 (7.7)	0.70 (12.8)	1.12 (20.5)	-0.52 (-5.9)	0	0	
4	before	6.23	2.78 (44.6)	0.44 (7.1)	1.00 (16.1)	2.00 (32.2)		1 : 128	1 : 256	
	after	5.68	2.74 (48.2)	0.44 (7.8)	0.93 (16.3)	1.57 (27.7)	-0.43 (-4.5)	0	0	
mean value of change		-0.60	± 0 (+4.9)	-0.01 (+0.6)	-0.16 (-1.1)		-0.43 (-4.5)			

Table 3. Absorption test with heat-killed tubercle bacille of the serum of rabbits inoculated with heat-killed paraffin oil human type tubercle bacilli "H₃₇Rv"

—Changes of serum protein content and antibody titer—

rabbit No.	absorption	TP gm/dl	Alb gm/dl (%)	α -G gm/dl (%)	β -G gm/dl (%)	γ -G gm/dl (%)	change of γ -G content	antibody titer	hemagglu- tination test	hemoly- sis test
5	before	6.55	3.28 (50.0)	0.35 (5.4)	0.92 (14.1)	1.99 (30.4)		1: 512	1:2,048	
	after	5.90	3.62 (55.3)	0.40 (6.7)	0.77 (13.0)	1.48 (25.0)	-0.51 (-5.4)	0	0	
6	before	6.55	3.65 (57.6)	0.55 (8.7)	0.86 (13.5)	1.28 (20.2)		1: 512	1:2,048	
	after	5.79	3.69 (63.7)	0.51 (8.8)	0.68 (11.8)	0.91 (15.7)	-0.37 (-4.5)	0	0	
7	before	6.45	3.52 (54.6)	0.49 (7.6)	0.88 (13.6)	1.56 (24.2)		1:1,024	1:4,096	
	after	6.01	3.49 (58.1)	0.48 (8.0)	0.75 (12.5)	1.29 (21.4)	-0.27 (-2.8)	0	0	
8	before	6.23	3.59 (57.7)	0.48 (7.7)	0.96 (15.4)	1.20 (19.2)		1:1,024	1:4,096	
	after	5.58	3.54 (63.4)	0.50 (8.9)	0.74 (13.3)	0.80 (14.4)	-0.40 (-4.8)	0	0	
mean value of change		-0.63	-0.02 (+5.2)	± 0 (+0.8)	-0.17 (-1.5)		-3.9 (-4.4)			

Table 4.

No. 1 Absorption test with heat-killed tubercle bacilli of the serum of rabbits injected with tuberculin-sensitized red blood cells

—Changes of serum protein content and antibody titer—

rabbit No.	absorption	TP gm/dl	Alb gm/dl (%)	α -G gm/dl (%)	β -G gm/dl (%)	γ -G gm/dl (%)	change of γ -G content	antibody titer	hemagglu- tination test	hemoly- sis test
							titation test	hemagglu- tination test	hemoly- sis test	
9	before	6.98	4.48 (64.2)	0.38 (5.4)	0.87 (12.5)	1.25 (17.9)		1: 512	1:1,024	
	after	6.34	4.36 (68.8)	0.32 (5.2)	0.69 (10.4)	0.98 (15.6)	-0.27 (-2.3)	0	0	
10	before	5.47	3.31 (58.2)	0.28 (4.9)	0.89 (15.6)	1.21 (21.3)		1:1,024	1:2,048	
	after	5.03	3.27 (61.6)	0.30 (5.6)	0.79 (14.8)	0.99 (18.5)	-0.22 (-2.8)	0	0	
11	before	6.23	3.56 (57.1)	0.26 (4.1)	0.89 (14.3)	1.53 (24.5)		1:1,024	1:2,048	
	after	5.68	3.49 (61.5)	0.22 (3.8)	0.73 (12.6)	1.26 (22.1)	-0.27 (-2.4)	0	0	
mean value of change		-0.51	-0.08 (+3.6)	-0.02 (3.8)	-0.11 (-1.5)		-0.25 (-2.5)			

No. 2 Absorption test with tuberculin-sensitized red blood cells of the serum of rabbits injected with tuberculin-sensitized red blood cells

—Changes of serum protein content and antibody titer—

rabbit No.	absorption	TP gm/dl	Alb gm/dl (%)	α -G gm/dl (%)	β -G gm/dl (%)	γ -G gm/dl (%)	change of γ -G content	antibody titer	hemagglu- tination test	hemoly- sis test
							titation test	hemagglu- tination test	hemoly- sis test	
9	before	6.98	4.48 (64.2)	0.38 (5.4)	0.87 (12.5)	1.25 (17.9)		1: 512	1:1,024	
	after	6.45	4.42 (68.5)	0.31 (4.8)	0.74 (11.4)	0.99 (15.3)	-0.26 (-2.6)	0	0	
10	before	5.47	3.31 (58.2)	0.28 (4.9)	0.89 (15.6)	1.21 (21.3)		1:1,024	1:2,048	
	after	5.14	3.23 (63.1)	0.27 (5.3)	0.68 (13.2)	0.95 (18.4)	-0.26 (-2.9)	0	0	
11	before	6.23	3.56 (57.1)	0.26 (4.1)	0.89 (14.3)	1.53 (24.5)		1:1,024	1:2,048	
	after	5.79	3.56 (61.4)	0.26 (4.5)	0.66 (11.4)	1.34 (22.7)	-0.19 (-1.8)	0	0	
mean value of change		-0.43	-0.05 (+4.4)	-0.03 (+0.1)	-0.23 (-2.1)		-0.24 (-2.4)			

Table 5. Hemagglutination and hemolysis tests with serum protein fraction

dilution of fraction		1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:
fraction of the serum protein	test	4,096	2,048	1,024	512	256	128	64	32	16	8
Alb	hemagglutination	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	hemolysis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
$\alpha+\beta+\gamma$	hemagglutination	2'	2'	2'	1	0	0	0	0	0	0
	hemolysis	2	2	2'	1	1	1'	0	0	0	0
$\alpha+\beta$	hemagglutination	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	hemolysis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
γ	hemagglutination	3'	2	2	2'	1	1	1	0	0	0
	hemolysis	3	3	3	3'	2	2	1	1	1'	0
Serum	hemagglutination	3	3	2	2	2	1	1	1	0	0
	hemolysis	3	3	3	3'	3'	2	2	2	1	1

i) 33'22'11' shows intensity of the reaction ii) 0 shows negative reaction

Table 6. Macroscopic finding of the rabbits infected with human type tubercle bacilli "H₃₇ Ry" and the result of quantitative culture of the bacilli in the viscera (7 weeks after infection)

rabbit No.	finding of main lymph gland					finding of viscera			finding on culture		
	inguinal		mesentery			lung	liver	spleen	kidney	liver	spleen
	right	left	popliteal	sacrum	hilus of the lung	hilus hepatis	axilla	liver	lung	lung	liver
1	-	-	-	-	-	+	+	-	±	+	++
2	-	-	-	-	-	±	±	-	+	+	##
3	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	##
4	-	-	-	-	-	±	+	-	+	+	++

i) form of lymph gland ii) change of viscera iii) numbers of colony

— no swelling — no visible findings — 0

± rice corn size ± doubtful finding + 1~10

+ green pea size + a small number of + 11~20

++ soy bean size + tubercle ++ 21~50

++ a large number of +++ 51~100

tubercle