

結核免疫に関する研究

第 9 報

ツベルクリン皮膚アレルギーと腸管過敏症に関する研究

第 2 篇 結核死菌感作モルモットの o-Aminophenol

Azo-Tuberculin による脱感作について

金沢大学結核研究所細菌免疫部（主任：柿下正道教授）

森 永 健 市

柳 碩 也

（受付：昭和33年2月13日）

緒 言

著者の一人森永¹⁾はさきに結核死菌流動パラフィン浮遊液（流パラ・ワク）感作モルモットと健常非感作モルモットに Old Tuberculin（OT）の少量を連日皮下に注入し乍ら、Römer反応（“T”反応）、Middlebrook-Dubos 反応（M-D 反応）並びに腸管の Schultz-Dale 反応（S-D 反応）の消長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 反応及び S-D 反応はこれに反して増強した。この S-D 反応の増強は主として OT 蛋白分画によるものであつて、健常非感作モルモットのそれと類似したが、感作後放置したモルモットの S-D 反応が主として OT 多糖体分画によるものと興味ある対比を示

した。更に流パラ・ワク感作モルモット（OT 脱感作群及び放置群共に）及び OT 連続注射をうけた健常モルモットにおいて共に o-Aminophenol Azo-Tuberculin（OA-Azo-T）の S-D 反応における反応原性が OT よりはるかに劣り、その際 OA-Azo-T のアゾ化の程度と該反応原性の関係をみるとアゾ化の高度なものの程著しく反応原性の弱いことを見出し、既に報告した。

そこで今回は高度アゾ化の OA-Azo-T(IV) を流パラ・ワク感作モルモット及び健常非感作モルモットに連日少量宛皮下注射し、“T”反応、M-D 反応並びに S-D 反応の推移を検討した。以下その成績を述べる。

実験材料並びに実験方法

1) 実験材料

- a) 実験動物：体重500gm前後の10倍稀釈OT 0.1ml 及び OA-Azo-T 4r/0.1ml による“T”反応陰性の健常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：前篇²⁾に準じて行つた。

- c) S-D 反応原として使用した標本：前篇²⁾と同一の OT、その蛋白分画（PF_I, PF_{II}）及び多糖分画（CF_I, CF_{II}）、高度及び不完全アゾ化の OA-Azo-T（それぞれ OA-Azo-T(IV) 及び OA-Azo-T(III)）、結核菌菌体の蛋白分画（PF）及び多糖体分画（CF）を使用した。

2) 実験方法

- a) “T”反応：10倍稀釈 OT 0.1ml 及び OA-Azo-T 4r/0.1ml を使用し、48時間後の硬結径を測定し

- た。一度 “T” 反応及び OA-Azo-T 皮下注射に用いた部位は再び “T” 反応に用いない様に留意した。
b) M-D 反応及び S-D 反応：前篇¹⁾に準じて行つた。

実験成績

実験 I) OA-Azo-T 連日皮下注射 健常モルモットにおける “T” 反応、M-D 反応並びに 剔出腸管の S-D 反応の観察。

モルモット 6 匹に下記の如く OA-Azo-T を連日腋窩皮下に注射した。

40γ/ml	0.1ml宛	7日間
〃	0.2ml宛	〃
160γ/ml	0.1ml宛	〃
〃	0.2ml宛	〃
500γ/ml	0.1ml宛	14日間
〃	0.2ml宛	〃

注射開始後 2, 4, 6 及び 8 週に “T” 反応並びに M-D 反応を、4, 6 及び 8 週に S-D 反応を行つた。

成績は表 1, 図 1 に示した。

すなわち、

- 1) “T” 反応：OT によつては 6 週まで被検全例共陰性であつたが、8 週後に試験した 2 例が陽性を示した。しかるに一方 OA-Azo-T によつては観察期間中全例陰性であつた。
- 2) M-D 反応：弱い乍ら反応の出現が認められ、6～8 週で抗体価 1 : 8～1 : 16 を示した。
- 3) S-D 反応

- a) OT 添加：8 週の 1 例に陽性反応が認められたのみであつた。よつてこの 1 例について以下の試験を行い抗原分析を試みた。
- b) OA-Azo-T 添加：アゾ化の高度な OA-Azo-T (IV) により反応は認められなかつたが、不完全アゾ化の OA-Azo-T (I) によりかなり強い反応が認められた。
- c) OT 分画添加：CF_I 及び CF_{II} により共に反応は認められなかつたが、PF_I 及び PF_{II} によりおおむね OA-Azo-T (I) と同程

度の反応が認められた。尚両分画及び OA-Azo-T (I) の反応原性の間には OA-Azo-T (I) \geq PF_I \geq PF_{II} の関係が認められた。

- d) 菌体分画添加：PF 並びに CF により共に反応は認められなかつた。

実験 II) 流パラ・ワク感作モルモットに対する OA-Azo-T 連日皮下注射の “T” 反応、M-D 反応並びに 剔出腸管の S-D 反応に及ぼす影響
流パラ・ワク感作モルモットは感作後 4 週に OT による “T” 反応及び SD 反応の陽性が認められたので、動物を 2 群にわけ、6 匹には実験 I と同操作で OA-Azo-T の連日皮下注射 (脱感作処置と仮称する) を実施し (脱感作群) 残り 6 匹はそのまま放置した (放置群)。

脱感作群では脱感作処置開始後 2, 4, 6 及び 8 週に “T” 反応並びに M-D 反応を、4, 6 及び 8 週に、S-D 反応を行い、放置群では感作後 8, 10 及び 12 週に “T” 反応、M-D 反応及び S-D 反応を行つた。なお脱感作群では OT による “T” 反応と共に OA-Azo-T による “T” 反応を同時に行つた。

成績は表 2, 表 3, 図 2 に示した。

すなわち、

- 1) “T” 反応：放置群では感作後 8 週に反応は最も強く、以後おおむね同値を維持したが、脱感作群では OA-Azo-T による反応は脱感作処置開始前既に OT による反応に比し相当弱く、且つ処置開始後は 2 週で全例において陰転が認められた。然るに一方 OT による反応は放置群に比し幾分減弱するが、8 週後においてもなお処置前と顕著な差のない陽性値を維持した。
- 2) M-D 反応：放置群では感作後 8 週の抗体価 1 : 32～1 : 64 を頂点に以後やゝ減弱傾向

を示したが、脱感作群では漸次増強が認められ、処置開始後6週で1:64~1:256を示し、8週後においてもおおむね同値を維持した。

3) S-D 反応

a) OT 添加：放置群では反応は感作後8週を頂点に以後幾分減弱傾向を示したが、脱感作群では処置開始後4及び6週においては放置群と大差を認めないが、8週において明かに増強が認められた。

b) OA-Azo-T 添加：OA-Azo-T (IV) により両群全例に於て反応原性を認めなかった。OA-Azo-T (I) により放置群においては反応を認めなかったが、脱感作群においては処置開始後6週より8週と漸次増強する反応が認められた。

c) OT分画添加：PF_I, PF_{II}により、放置群では感作後8週及び10週に弱い反応が認められたにすぎなかったが、脱感作群では処置開始後6週より8週と漸次増強が認められ放置群と著しい差を示した。なお両分画及び OA-Azo-T (I) の反応原性の間

には OA-Azo-T (I) \geq PF_{II} \geq PF_I の関係が認められた。

CF_{II}により放置群及び脱感作群の間に著しい反応の差は認められなかった。

即ち、両群共に感作後8週（脱感作群では処置開始後4週）において強く、感作後12週（脱感作群では開始後8週）において弱い反応を認めた。

CF_Iにより両群全例に反応は認められなかった。

d) 菌体分画添加：PFにより、放置群においてはPF_I, PF_{II}によるより強い反応が認められ、脱感作群においても処置開始後4週ではこれと同様な成績を示したが、6週以後においては逆にPF_I, PF_{II}によるより遙かに弱い反応が認められた。またCFにより、放置群においてはCF_{II}によるよりも強い反応が認められたが、脱感作群においては逆にCF_{II}によるより弱い反応が認められた。

総括並びに考案

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事は周知の事実である。

柳沢²⁾はさきにこの OA-Azo-T を Tween80, 流動パラフィンと共にモルモットに注射し、OT による“T”反応を陽転せしめ得たと報告した。われわれも OA-Azo-T を少量より漸次増量して健常モルモットに8週間連続皮下注射（総量2,520 γ ）して、OT による“T”反応の出現と共にM-D反応に対する抗体の産生を認めた。しかし同時に実施した OA-Azo-T による“T”反応が陰性に止る事を知った。しかしてS-D反応はわずかに1例のみに認められたが、その反応原を追究したところ注射に使用せる OA-Azo-T (IV) によつては反応が認められず、不完全アゾ化のOA-Azo-T (I) によりかなり強い反応が認められ、且つOTによる反応が主として

その蛋白分画によるものであることを認めた。

以上の事はさきに森永¹⁾が OT を健常モルモットに連続注射して M-D 反応抗体の産生と OT 及び主としてその蛋白分画による S-D 反応の発現をみたことにおいては同じ成績であるが、OT による“T”反応が認められるに至らなかった点において異なるところがあつてまことに注目すべき現象である。

同じく森永¹⁾は流パラ・ワク感作モルモットに OT 脱感作処置を施す事により“T”反応は陰転し、M-D 反応及び S-D 反応はかえつて増強する事を認め、八木³⁾は結核ウサギに OA-Azo-T 脱感作を行い、OT 脱感作実施の時とは同じく“T”反応と免疫反応の解離する事を報告した。而してわれわれは更に流パラ・ワク感作モルモットを OA-Azo-T をもつて脱感作し“T”反応、M-D 反応に加えて S-D 反応の推移

を觀察する為本実験を行つたところ、血清抗体価の上昇及びS-D反応の増強という点ではほぼ同一成績が得られたが“T”反応の点でいささか異なる結果が觀察された。

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”反応の解離が認められたのである。

さてOA-Azo-T脱感作時に認められたM-D反応の上昇、OT及び主としてその蛋白分画、OA-Azo-T(I)によるS-D反応の増強は、1) 健常モルモットにOA-Azo-Tを連日皮下注射する事により弱い乍らもM-D反応抗体の産生とOT、主としてその蛋白分画、OA-Azo-T(I)によるS-D反応の出現が認められる事、2) 流パラ・ワク感作後放置したモルモット

トにおけるS-D反応がOT及び主としてその多糖体分画CF_{II}による事などより、OA-Azo-Tによる感作状態との関連性において考へべき事で脱感作機構解明に一つの示唆を与えるものであろう。又OA-Azo-Tの連続注射が健常モルモットにOTによる“T”反応感受性を賦与するが、OA-Azo-Tによる“T”反応感受性を賦与せず、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事はまことに興味を引く現象であつて、OTの連続注射が健常モルモットにOTによる“T”反応感受性を賦与せず、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と比較することによつて、OTとOA-Azo-Tの間に存する皮膚反応原性に差のある事が窺える。

結

健常非感作モルモット並びに流パラ・ワク感作モルモットに高度アゾ化のOA-Azo-T(IV)の少量宛を連日皮下注射し乍ら、“T”反応、M-D反応、並びに腸管のS-D反応の変動を觀察し、次の成績を得た。

1) 非感作モルモット群では、OA-Azo-Tによる“T”反応の出現は遂にみられるに至らなかったが、OTにより“T”反応の陽転が招来され、M-D反応に対する弱い抗体の産生とOT、主としてその蛋白分画及びOA-Azo-T

語

(I)によるS-D反応の出現が認められた。

2) 流パラ・ワク感作モルモット群では、OA-Azo-Tによる“T”反応は極めて容易に陰転したが、OTによる“T”反応は陰転せず、M-D反応抗体価及びOT、主としてその蛋白分画及びOA-Azo-T(I)によるS-D反応の増強が認められた。このことは放置群においてはOT及び主としてその多糖体分画CF_{II}によりS-D反応が認められることと比較して興味ある対比を示した。

文

- 1) 森永健市：金大結研年報，15（中），163，1956。 2) 柳沢 謙：アレルギー，4，73，

献

- 1955。 3) 八木静馬：金大結研年報，14，（上），43，1955。

図 1 健常モルモットに連日 OA-Azo-T を皮下注射した場合の 3 反応の消長

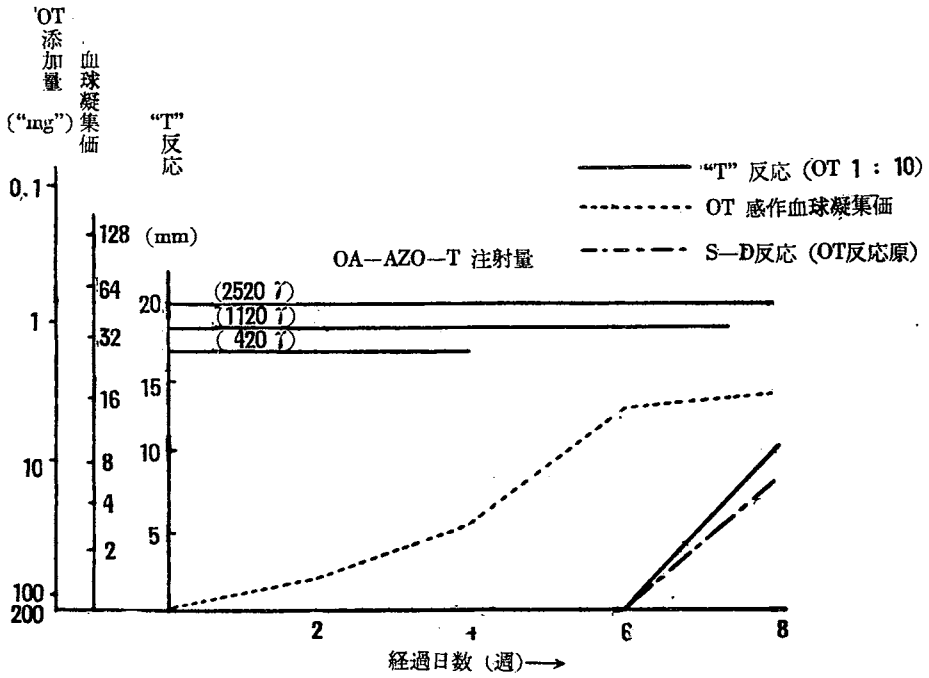


表 1 健常モルモットに連日 OA-Azo-T を皮下注入した場合の 3 反応の消長

モルモット番号	“T” 反応<OT (1 : 10) OA-Azo-T (4r/0.1ml)					OT 感作血球凝集価				S - D 反 応							
	注 射 前	注 射 後				注 射 後				O T		OT-Azo-T(IV)		OA-Azo-T(I)		各分割の反応原性の強弱	
		2 週	4 週	6 週	8 週	2 週	4 週	6 週	8 週	添加量	成績	添加量	成績	添加量	成績		
107	(-)	(-)	(-)			1:4>	1:4>			200 “mg”	(-)	1mg	(-)	1mg	(-)	◎	
112	(-)	(-)	(-)			1:4>	1:4			200 “mg”	(-)	0.4mg	(-)	1mg	(-)	◎	
110	(-)	(-)	(-)	(-)		1:4>	1:4	1:8		200 “mg”	(-)	0.4mg	(-)	1mg	(-)	◎	
111	(-)	(-)	(-)	(-)		1:4	1:4	1:16		200 “mg”	(-)	1mg	(-)	1mg	(-)	◎	
108	(-)	(-)	(-)	(-)	10×10	1:4>	1:4	1:16	1:16	200 “mg”	(-)	1mg	(-)	1mg	(-)	◎	
109	(-)	(-)	(-)	(-)	10×11	1:4	1:4	1:16	1:16	3 “mg”	(+)	1mg	(-)	1mg	(+)	PF _I ≥ FF _{II} >> CF, PF, CF _I , CF _{II}	

註： 1) ◎はCF_I, CF_{II}, PF_I, PF_{II}, CF, PFをそれぞれ添加するも反応を認めず。

2) “T” 反応……Römer 反応. S-D 反応……Schultz-Dale 反応.

3) S-D反応における陽性時の数値は最少有効量を，陰性時は最大無効量を示す。

表 2 流パラ・ワク感作モルモットの OA-Azo-T 脱感作時における“T”反応及び M-D 反応の消長

放 置 群	モ 番 ル モ ット 号	感 作 菌 量	“T” 反 応 (OT 1 : 10)					OT 感 作 血 球 凝 集 価				
			感 作 期 間					感 作 期 間				
			4 週	6 週	8 週	10 週	12 週	4 週	6 週	8 週	10 週	12 週
	8	H ₃₇ Rv 2mg	19×19					1 : 32				
	3 8	“	17×19					1 : 16				
	3 4	“			23×25					1 : 32		
	3 5	“			23×24					1 : 64		
	1 3	“				24×25					1 : 16	
	5 3	“				29×30					1 : 64	
	5	“					30×26					1 : 64
脱 感 作 群	2 2	“					20×22					1 : 16
脱 感 作 群	モ 番 ル モ ット 号	感 作 菌 量	“T” 反 応<OT (1 : 10) OA-Azo-T (4r/0.1ml)					O T 感 作 血 球 凝 集 価				
			感 作 期 間 (脱 感 作 期 間)					感 作 期 間 (脱 感 作 期 間)				
			4 週	6 週 (2週)	8 週 (4週)	10 週 (6週)	12 週 (8週)	4 週	6 週 (2週)	8 週 (4週)	10 週 (6週)	12 週 (8週)
	102	H ₃₇ Rv 2mg	19×18 10×9	16×16 (-)	15×15 (-)				1 : 32	1 : 32		
	103	“	21×22 8×8	19×19 (-)	21×21 (-)				1 : 32	1 : 32		
	101	“	19×20 9×9	16×16 (-)	16×14 (-)	16×15 (-)			1 : 32	1 : 32	1 : 64	
	104	“	19×18 9×9	18×18 (-)	19×18 (-)	18×20 (-)			1 : 32	1 : 64	1 : 128	
	106	“	20×19 8×6	21×18 (-)	17×18 (-)	18×19 (-)			1 : 128	1 : 256	1 : 256	
	105	“	23×19 10×9	22×22 (-)	22×23 (-)	20×21 (-)	18×17 (-)		1 : 64	1 : 64	1 : 128	1 : 128

註 : M-D反応……Middlebrook-Dubos 反応

表 3 流パラ・ワク感作モルモットの OA-AzoT 脱感作時における S-D 反応の消長

モ 番 ル モ ット 号	感作菌量	感 作 期 間 脱 感 作 期 間 (OA-Azo-T量)	S - D 反 応						各 分 割 の 反 応 原 性 の 強 弱
			O T		OA-Azo-T (IV)		OA-Azo-T (I)		
			添加量	成績	添加量	成績	添加量	成績	
8	H ₃₇ Rv2mg	4 週	5“mg”	(+)	0.2mg	(-)	・		*
3 8	“	“	10“mg”	(+)	1mg	(-)	・		CF _{II} ≫PF _I , PF _{II} , CF _I
1 0 2	“	8 週 脱感作 4 週(420r)	200“mg”	(-)	0.2mg	(-)	1mg	(-)	◎
1 0 3	“	“	3“mg”	(+)	1mg	(-)	1mg	(-)	CF _{II} >CF>PF≫CF _I , PF _I , PF _{II}
3 4	“	8 週	3“mg”	(+)	1mg	(-)	1mg	(-)	CF>CF _{II} >PF>PF _{II} ≧PF _I ≧CF _I
3 5	“	“	0.1“mg”	(+)	1mg	(-)	・		CF>CF _{II} ≫PF, PF _{II} , PF _I , CF _I
1 0 1	“	1 0 週 脱感作6週(1,120r)	200“mg”	(-)	0.2mg	(-)	・		◎
1 0 4	“	“	200“mg”	(-)	0.2mg	(-)	1mg	(-)	◎
1 0 6	“	“	1“mg”	(+)	1mg	(-)	1mg	(+)	PF _{II} ≧PF _I ≫PF, PF, CF _{II} , CF _I
1 3	“	1 0 週	1“mg”	(+)	0.2mg	(-)	・		CF _{II} ≫PF _{II} , PF _I , CF _I
5 3	“	“	0.8“mg”	(+)	1mg	(-)	1mg	(-)	CF _{II} >PF _{II} ≫PF _I , CF _I
1 0 5	“	1 2 週 脱感作8週(2,520r)	0.3“mg”	(+)	1mg	(-)	0.1mg	(+)	PF _{II} ≧PF _I >CF _{II} ≫PF, CF, CF _I
5	“	1 2 週	1“mg”	(+)	1mg	(-)	・		CF _{II} ≫PF _I , PF _{II} , CF _I
2 2	“	“	2“mg”	(+)	0.2mg	(-)	・		∴

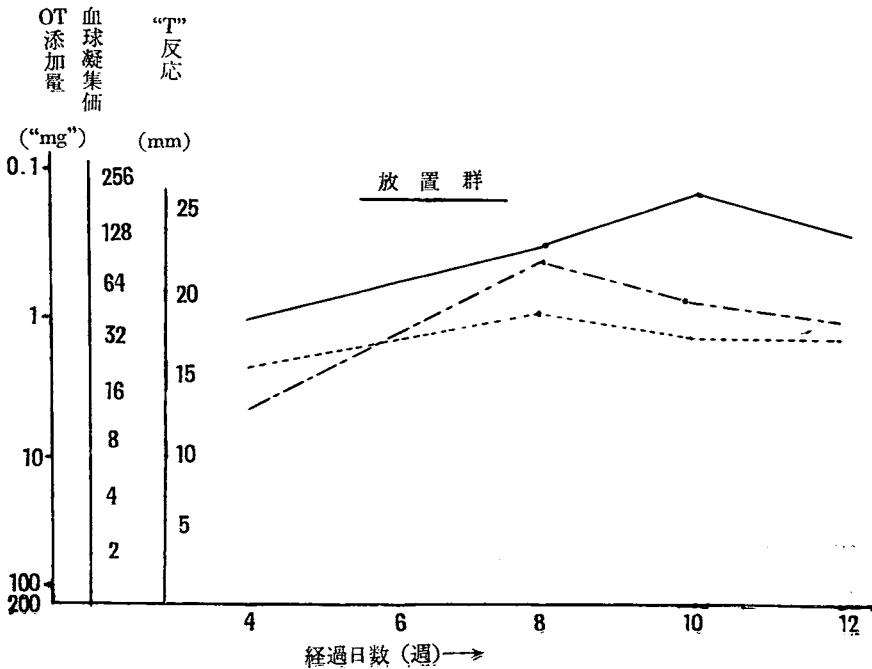
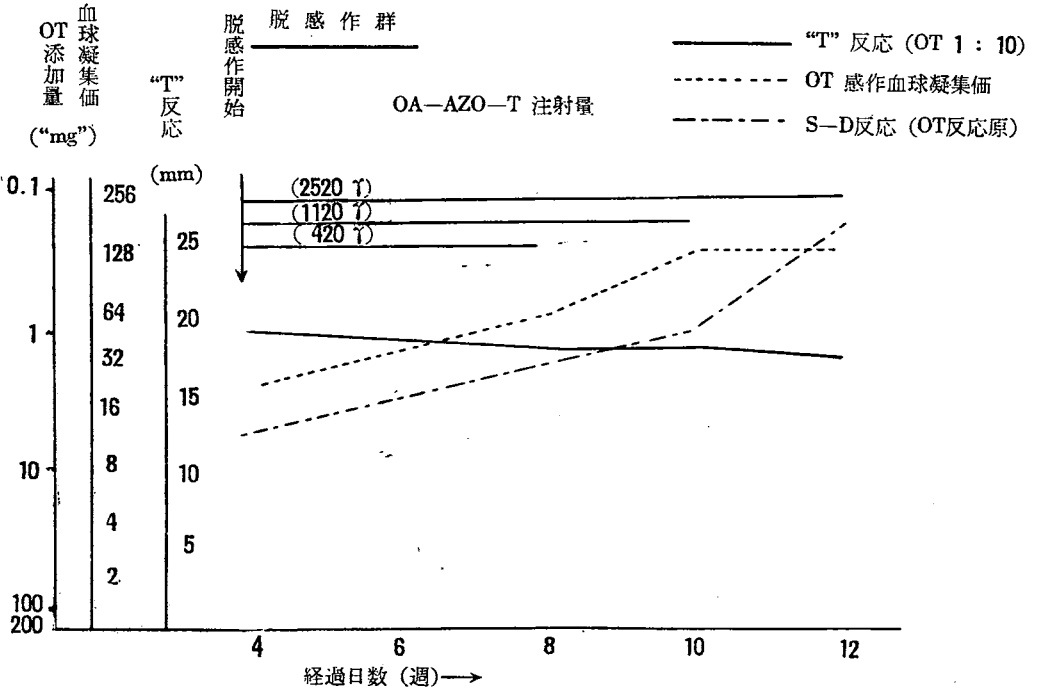
註 : ・は実施せず。

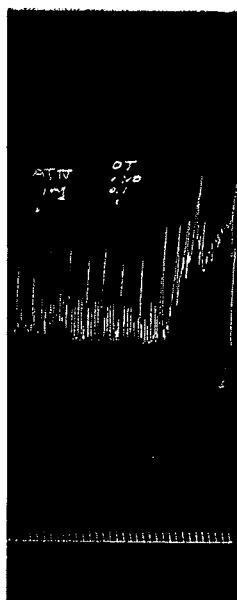
*はCF_I, CF_{II}, PF_I, PF_{II}, をそれぞれ添加するも反応を認めず。

◎はCF_I, CF_{II}, PF_I, PF_{II}, CF, PFをそれぞれ添加するも反応せず。

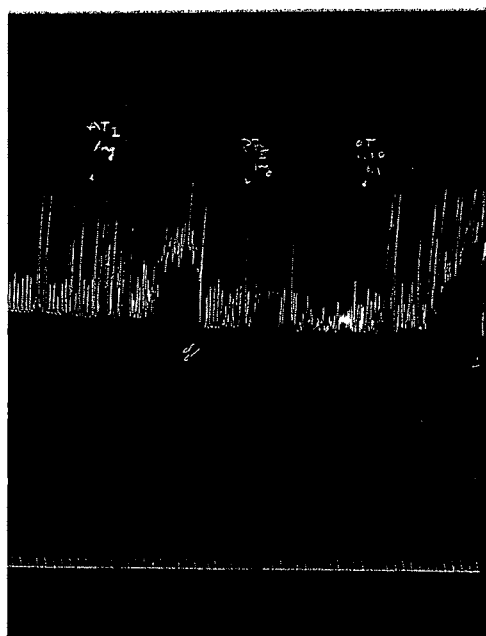
∴はCF_I のみ実施するも反応を認めず。

図 2 流パラ・ワク感作モルモット OA-Azo-T 脱感作時における3反応の消長

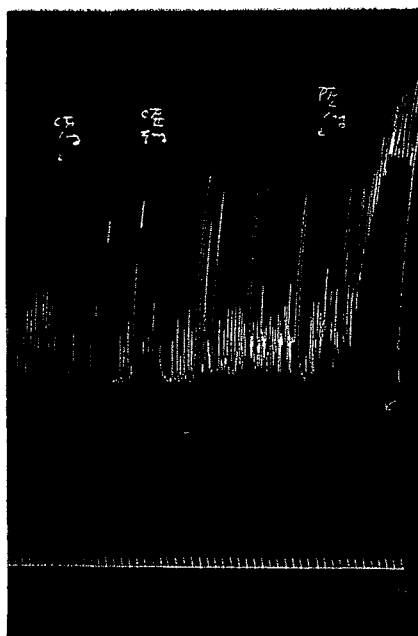




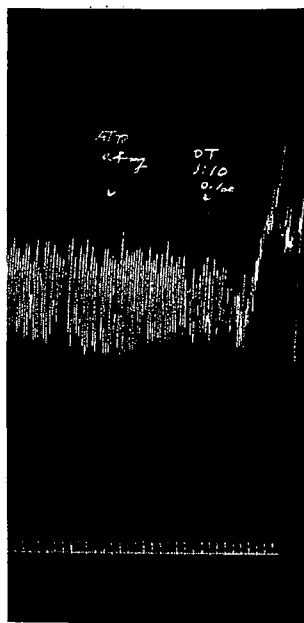
モルモット No. 105
OA-Azo-T 脱感作 8 週



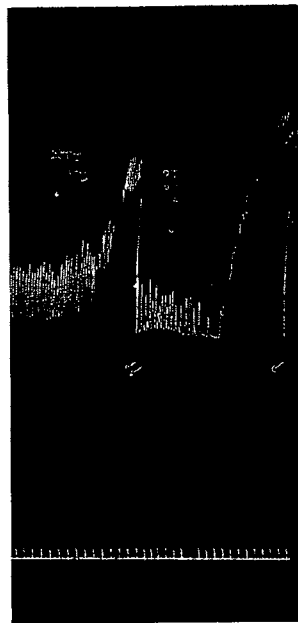
モルモット No. 105 OA-Azo-T 脱感作 8 週



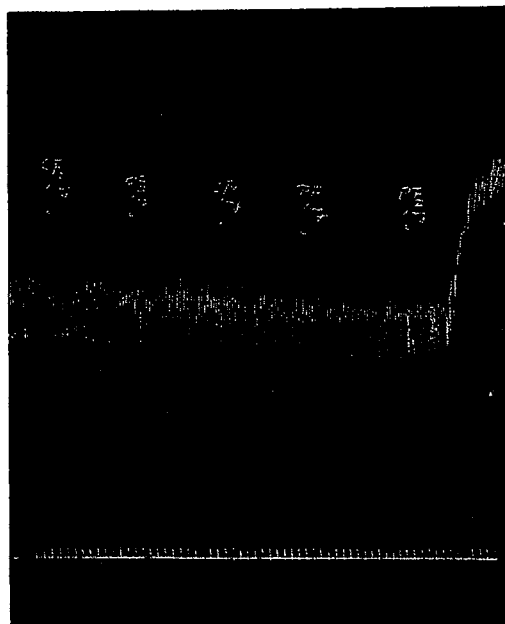
モルモット No. 105 OA-Azo-T 脱感作 8 週



モルモット No. 109 OA-Azo-T
連注 8 週



モルモット No. 109 OA-Azo-T
連注 8 週



モルモット No. 109 OA-Azo-T 連注 8 週