

2, 3 薬物の結核菌のツベルクリン・ アレルギー感作能に対する影響について

金沢大学結核研究所薬理製剤部（主任：伊藤 亮教授）

船 崎 嘉 一
木 越 茂
松 田 雅 夫
沼 田 直 吉

（受付：昭和32年6月19日）

緒 言

人並びに動物に対する結核菌のツベルクリン（「ツ」）・アレルギー（「ア」）感作性能については従来より幾多研究者の論議的となつてきたところであるが、その「ツ」・「ア」感作抗原については——最近 Raffle 等によつて結核菌の Wax-Fraction の抗原性についての注目すべき研究が報告されている（1, 2）——今日尚明確な知識が得られるまでにいたつていない（3）。ところで、「ツ」単独では、旧「ツ」、精製「ツ」蛋白或は菌体蛋白成分の何れの標品を以つてしても動物に対して「ツ」・「ア」感作が不可能であるが、結核菌体ではその生死を問わず、少量でもつて容易に「ツ」・「ア」感作が誘起される事から、菌体内で菌体成分と結合状態にある「ツ」因子が生体内で菌体の崩壊によつて放出され、ここにはじめて感作抗原として生体感作構作に参加するも

のと考えられている。

最近、伊藤教授らによつて、洗滌結核菌体をクエン酸溶液中に浸漬すると大量の「ツ」活性物質〔Citrate-Tuberculin (CIT)〕が迅速に産生されること（4）、更に、この結核菌の *in vitro* に於ける CIT 産生が $HgCl_2$, $AgNO_3$, Formalin のように薬物によつて抑制されるのに反して、抗結核菌剤〔Streptomycin (STM), Isonicotinic Acid Hydrazide (INH), p-Aminosalicylic Acid (PAS)〕にはそのような抑制効果がないこと等が報告された（5）。

これらの研究結果に鑑みて、著者らは今回上記のような種々の薬物が結核菌のモルモットに対する「ツ」・「ア」感作性能にどのような影響を及ぼすかについて検索を行つたので、ここにその成績を報告する。

実 験 方 法

1. 菌株：

教室保存の人型結核菌青山B株（Sauton培地に培養）を使用した。

2. 感作実験：

（a）薬物処置菌液調製：

菌液調製はすべて無菌的操作で行つた。青山B菌の5週間 Sauton 培養から無菌的に分離した菌

体を滅菌濾紙間に圧して可及的水分を除いて、その約200—300mg（湿量）を乳鉢にとつて、磨砕しながら所定濃度の被検薬物液を菌量100mgに対し2mlの割に加えて菌懸濁液を作る。この菌液2mlを遠心管にとつて、更に薬液40mlを追加し、一定時間、一定温度に静置する。次いで菌体を遠心分離した後、更に蒸留水で3回洗滌し、最後に

菌を0.85%食塩水 20ml 中に浮遊したものを(菌量 5 mg/mlに相当) 100°で30分間加熱殺菌して感作用に供した。

尚何ら薬液で処置しないで100°, 30分加熱した菌液(5 mg/ml)を感作実験の対照菌液とした。

第1表に本研究に使用した各薬物の濃度, 作用温度並びに時間を示した。

(b) 動物感作:

多数の健全白色モルモットを, 予め「ツ」反応陰性なることを確めた後, 3又は5匹宛の群に分けその1つを対照群とし, その他は本実験群とし

た。

対照群のモルモットには青山B菌の加熱死菌液を, 本実験動物群の各群には上記薬物処置菌液の中の一種を1回夫々1ml宛を5日間隔で2回腹腔内注射した。

(c) 「ツ」検査:

上記のように結核菌による感作を行ったモルモットについて, 第2回目の注射終了後2, 4及び8週目に旧「ツ」(青山B菌の8週 Sauton培養濾液の1:10稀釈液) 0.1mlの皮内注射による「ツ」皮膚反応検査を行った。

結

第2表第1実験は, 人型結核菌青山B株のHgCl₂-, Phenol-, AgNO₃-並びにFormalin-処置菌及び加熱死菌について夫々モルモットに対する「ツ」・「ア」感作能を比較検索した成績表である。この表で明かなように, 加熱死菌を接種した対照動物群では, 感作終了後第2週目に行つた「ツ」検査で既に全動物が旧「ツ」1:10, 0.1 mlに対して強い皮膚反応を示した。

更に4, 8週と日を追つて反応は著大となつていて, これらの動物では2ヶ月の経過で「ツ」・「ア」の発現増強の有様が明かに認められた。

一方薬物処置菌で感作した4動物群でも, 対照群と同様に, いずれの場合に於ても接種後第2週目で既に著明な「ツ」・「ア」の成立が認められ, 4及び8週ではその増進の様子が窺えるのである。

ここで注目されることは, 結核菌のCIT産生実験で顕著な抑圧効果を示したHgCl₂, AgNO₃, Formalinのような薬物で処置された結核菌が, CIT産生に対して無効果であつたPhenolで処置された結核菌と比べて「ツ」感作能では少しも異なるところがなかつたことである。

第2表第2実験は抗結核剤STM, INH及びPASについてその結核菌の「ツ」感作能に対す

果

る影響を検査した成績である。

ここでも, 第1群の対照動物はすべて, 第2週目の「ツ」検査で既に強い「ツ」反応を示し, 第4, 第8週目では反応の増大が明かである。

然るにSTM-処置群では, 試獣8匹のうち2匹(No. 46及び50)では「ツ」反応性に於て対照動物と同様な経過を示したが, 3匹(No. 41, 47及び48)では2ヶ月の実験期間経過中「ツ」皮膚反応は全く陰性であつた。

又モルモットNo. 46及び49では第2週目検査で陽性であつた「ツ」反応が第4, 第8週目では微弱陽性を示し, 「ツ」・「ア」消退の傾向が認められた。

一方INH-並びにPAS-処置菌接種群では, 何れの場合でも, 接種動物の「ツ」・「ア」発現状態は, 対照群の動物と比して何ら差異が見られなかつた。

すなわちこの実験成績からSTM-処置菌の「ツ」感作能が他のものに比べて, 幾分劣つていえるのであつて, このことはSTMが生体内結核菌に対しては単に菌発育阻止的に作用するのみでなくて, その免疫生物学的性状にも影響を与えることを示している。

結

薬物処理が結核菌のモルモットに対するツベ

語

ルクリン・アレルギー感作性能にどのような影

響を及ぼすかについて検索して次の結果が得られた。

1. HgCl_2 , AgNO_3 , Phenol 及び Formalin で処置した結核菌は何れもそのツベルクリン感作能に於て加熱死菌と異なるところがなかつ

た。

2. 抗結核菌剤では, STM 処置菌のツベルクリン感作能が加熱死菌のそれに比して幾分劣るところがあつたが, INH 及び PAS 処置は菌のツベルクリン感作能に対して無影響であつた。

文 献

1) Raffel, S.: Amer. Rev. Tuberc., **54**, 564, 1946. 2) Raffel, S.: J. Infect. Dis., **82**, 267, 1948. 3) Rich, A. R.: The Pathogenesis of Tuberculosis, 1951. 4) Ito, R.: Amer. Rev.

Tuberc., **67**, 526, 1953.

5) Ito, R.,

Yoshimura, M., Miyaji, T. and Imaki, A.: Japan. J. Tuberc., **1**, 1, 1953.

Table 1
Experimental conditions for treatment of
tubercle bacilli with reagents

Reagents	Experimental condition		
	concentration	temperature	time
HgCl_2	0.1 M	37°	24 hours
Phenol	3 %	37°	24 hours
AgNO_3	0.5 M	37°	24 hours
Formalin	1 %	room temperature	48 hours
STM	10 %	37°	7 days
INH	10 %	37°	7 days
PAS	10 %	37°	7 days

Table 2
 Influence of some reagents upon the sensitizing
 activity of tubercle bacilli
 Exp. I Study on HgCl_2 , Phenol, AgNO_3 and Formalin

No. of group	No. of guinea pig	Tubercle bacilli for sensitization	Skin reaction (mm) tested at a period (weeks) after sensitization		
			2	4	8
1	4	Heat-killed (Control)	18 × 19	died	.
	5		13 × 13	17 × 20	15 × 16
	6		14 × 14	21 × 22	16 × 17
2	10	HgCl_2 treated	14 × 14	12 × 16	18 × 18
	11		10 × 11	20 × 23	20 × 22
	12		10 × 11	18 × 19	21 × 25
3	17	Phenol-treated	15 × 16	20 × 21	16 × 17
	19		14 × 17	14 × 15	12 × 12
4	20	AgNO_3 -treated	15 × 15	14 × 16	14 × 14
	21		10 × 15	15 × 17	13 × 15
	22		8 × 12	died	.
5	23	Formalin-treated	11 × 11	14 × 16	12 × 14
	24		12 × 12	14 × 15	15 × 16
	25		10 × 11	15 × 16	14 × 16

The figures in skin reaction column are the 48-hour's reading of skin reaction.

Table 3
Influence of some reagents upon the sensitizing
activity of tubercle bacilli
Exp. II Study on STM, INH, and PAS

No. of group	No. of guinea pig	Tubercle bacilli for sensitization	Skin reaction (mm) tested at a period (weeks) after sensitization		
			2	4	8
1	35	Heat-killed (Control)	12 × 16	18 × 20	17 × 18
	36		14 × 17	18 × 20	20 × 20
	37		11 × 11	15 × 18	19 × 22
	38		12 × 13	12 × 12	18 × 19
	39		11 × 13	16 × 17	15 × 15
2	40	STM-treated	3 × 4	died	.
	41		0	2 × 4	8 × 9
	42		3 × 3	12 × 13	16 × 17
	46		14 × 14	16 × 17	9 × 10
	47		3 × 4	0	0
	48		0	0	0
	49		11 × 11	11 × 12	8 × 9
	50		11 × 12	12 × 14	16 × 16
3	51	INH-treated	11 × 13	15 × 17	15 × 16
	52		10 × 10	10 × 12	5 × 6
	53		10 × 10	14 × 16	22 × 22
	54		12 × 12	22 × 22	20 × 20
	55		14 × 15	17 × 19	18 × 18
4	56	PAS-treated	12 × 16	12 × 15	14 × 15
	57		10 × 12	14 × 15	16 × 16
	58		12 × 12	15 × 16	18 × 20
	59		3 × 4	4 × 4	3 × 4
	60		6 × 6	12 × 13	15 × 15