

Tween-80 加結核菌培地に対する血清の影響に 関する研究

第3報 結核患者血清の影響について

昭和35年1月12日受付

信州大学医学部細菌学教室 (指導: 田崎忠勝教授)

国立上田療養所 (所長: 伊藤富久衛博士)

柳 沢 雄 次

Studies on the Influence of Sera on the Tubercle Bacillus Medium Containing Tween-80

Report III Influence of the Serum of Tuberculous Patients

Yūji Yanagisawa

Department of Bacteriology, Faculty of Medicine, Shinshu University

(Director: Prof. T. Tazaki)

Ueda National Sanatorium

(Chief. Dr. F. Ito)

緒 言

私は第一^①, 第二報^②において結核菌に対する各種動物血清と Tween-80 (以下 Tw80) との協同作用について検討を加えた。本報では人間の血清と Tw80 の協同作用及び、ツベルクリン反応、赤血球沈降速度、病型並びにツベルクリン感作赤血球凝集反応との関係について実験を行なったので報告する。

検査材料及方法

I 検査材料

検査対照患者: 国立上田療養所入所患者で, 男子, 64名, 女子49名, 病型別は, 滲出型15, 増殖型34, 空洞型34, 手術後20, カリエス4, 湿性肋膜炎3, 気管支炎3, の計113例である。滲出型は比較的早期の滲潤を認めた軽症者。増殖型は慢性経過で然もX線上で散布巣あり, 中等症で手術を要しないもの。空洞型は2~3年以上経過の慢性型で両側に広汎な病巣を有し, しかも手術不能な重症者。手術後は成形術または肺葉切除終了者で尚経過観察中のもの。カリエスは脊椎カリエス患者である。また赤血球沈降速度 (以下赤沈) は1時間値。ツベルクリン反応 (以下ツ反応) は皮内接種後48時間で判定した。以上のものについて, 早朝空腹時の血清を 56°C 30' で非働化した後使用した。

II 実験方法

1) 培養方法は第一報^①と全く同様に行なった。血清は培地当り50, 100, 500倍の稀釈に加えた。

2) ツベルクリン感作赤血球凝集反応の術式は熊谷^③の方法に倣い行なった。

3) 血清の蛋白分劃は Aull & Mc Cord^④の方法によつた。総蛋白は日立蛋白計を使用した。

実験成績

1 ヒト血清と Tw80 との協同作用について

A) 血清稀釈について

7日培養で結核菌に対する患者血清の影響を見た。従つて判定は絶対確実とは云えないが, 従来の経験から判定した。結核菌の増殖を阻止したものは, 下記の通りであつた。

血清稀釈 50倍は 113例中82例
 " 100倍は " 27例
 " 500倍は " 6例

B) ツ反応との関係について (表1)

ツ反応は10耗以下陰性24例, 11耗以上を陽性として89例について調べた。その結果, 血清稀釈100倍の場

第1表 患者血清とツ反応との関係
(血清稀釈 100倍)

増殖	ツ反応	陰 性	陽 性	計
-		6	21	27
+		18	68	86
		24	89	113

$$\Pr \{ \chi^2 > 0.17 \} < 0.75$$

$$DF = 1$$

合、結核菌の増殖を阻止したものはツ陰性は6例、陽性は21例であつた。500倍の場合は陰性は2例、陽性は4例であつた。この結果100倍ではツ反応陰性と陽性について阻止のしかたに差はなかつた。500倍は阻止例数が少ないので計算はしなかつた。

C) 赤沈との関係について (表2)

赤沈は10耗以下49例, 11~40耗45例, 41耗以上19例について調べた, その結果, 血清稀釈100倍の場合, 増殖を阻止したものは夫々13例, 9例, 5例であつた。500倍の場合は3例, 1例, 2例, 計6例であつた。100倍では赤沈の違いによつて阻止のしかたに差はなかつた。

第2表 患者血清と赤沈との関係 (血清稀釈 100倍)

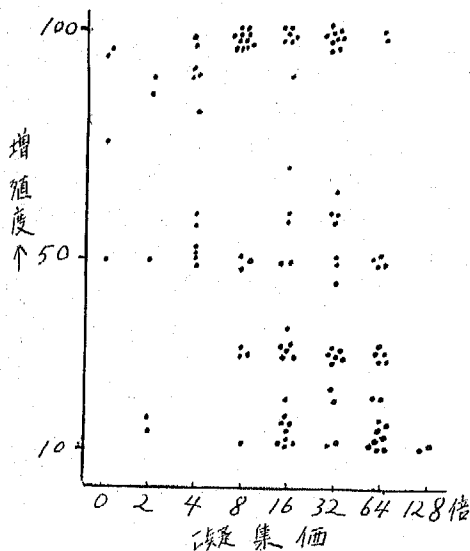
増殖	赤沈	10耗以下	11~40	40耗以上	計
-		13	9	5	27
+		36	36	14	86
		49	45	19	113

$Pr \{x^2 > 0.66\} < 0.50$
D F = 2

D) 赤血球凝集反応との関係について

図1に示すごとく, 血清稀釈100倍では, 結核菌の増殖阻止と凝集価の間には特に関係は認められなかつた。

第1図 赤血球凝集反応との関係 (血清稀釈 100倍)



E) 病型との関係について (表3)

血清稀釈100倍で増殖を阻止したものは, 滲出型15例中1例, 増殖型34例中13例, 空洞型34例中5例, 手術後20例中6例, 肺外結核10例中2例であり, 増殖型が最も多かつた。500倍の場合は滲出型1例, 増殖型2例, 空洞型3例であつた。100倍の場合は, 病型の違いによつて阻止のしかたに差はなかつた。

第3表 患者血清と病型との関係 (血清稀釈 100倍)

増殖	病型	滲出	増殖	空洞	手術	肺外	計
-		1	13	5	6	2	27
+		14	21	29	14	8	86
		15	34	34	20	10	113

$Pr \{x^2 > 8.35\} < 0.10$
D F = 4

F) 結核菌の増殖を阻止した場合と, 阻止しなかつた場合の比較について

血清稀釈50, 100, 500倍の何れも結核菌の増殖を阻止しなかつた例と, 500倍阻止の場合を比較した。表4, 5には, 凝集価, ツ反応, 赤沈, 病型, 蛋白分割を示した。これらの間には何らかの差が見られるかと考えて表に現わしたが, 特記する様な点は見られなかつた。

II ツ反応, 赤沈, 赤血球凝集反応, 病型について

赤血球凝集反応, 凝集価は, 1:4を陽性限界とした場合, 113例中, 陰性10例8.8%, 陽性4倍12例10.6%, 8倍17例15%, 16倍25例21.1%, 32倍27例23%, 64倍20例17.6%, 128倍2例1.8%であつた。陽性率は91.2%である。

1) ツ反応と凝集価との関係について

ツ反応10耗以下を陰性として24例, 11耗以上を陽性として89例について行なつた。表6に示すごとく, 実験例数がツ反応陰性の場合には少なかつたが, この範囲では, ツ反応の違いにより凝集価に差が認められた。

2) 赤沈と凝集価との関係について

赤沈値は10耗以下, 11~40耗, 41耗以上に区分した。赤沈と凝集価の関係は表7に示すごとく, 赤沈41耗以上では実験例数が少なかつたので正確な計算はできなかつたが, 赤沈の違いにより凝集価に差はなかつた。

3) 病型と凝集価との関係について

病型は, 滲出, 増殖, 空洞型, 手術後, 肺外結核に

第4表 結核菌の増殖を全く阻止しなかつた例

患者名	性	凝集価	赤沈	ツ反応	病型	総蛋白 g/dl	蛋白分劃				A/G	
							A1	α	β	γ		
林	○	♂	4	31耗	$\frac{15 \times 15}{50 \times 35}$	空洞	8.4	49.9	9.5	13.3	27.3	0.99
中	○	♂	陰性	8	$\frac{0}{17 \times 12}$	気管支炎	7.4	60.3	7.6	13.7	18.4	1.51
綾	○	♂	4	8	$\frac{15 \times 13}{34 \times 32}$	空洞	8.2	51.8	5.8	11.1	31.3	1.07
成	○	♂	陰性	16	$\frac{0}{17 \times 17}$	気管支炎	7.4	54.1	8.8	12.3	24.8	1.17
小	○	♀	64	5	$\frac{0}{16 \times 13}$	手術	7.5	57.3	7.8	11.6	23.3	1.34
日	○	♀	32	51	$\frac{0}{7 \times 7}$	空洞	7.6	58.1	7.1	10.2	24.6	1.38
辰	○	♀	8	9	$\frac{0}{15 \times 17}$	〃	/	/	/	/	/	/
内	○	♀	32	13	$\frac{0}{5 \times 8}$	増殖	7.4	68.7	4.5	9.5	17.3	2.19
池	○	♀	8	11	$\frac{0}{18 \times 20}$	〃	7.7	58.6	7.7	12.7	21.0	1.4
岩	○	♀	16	16	$\frac{0}{20 \times 15}$	滲出	8.0	60.2	9.3	8.9	21.6	1.51
宮	○	♀	16	4	$\frac{0}{15 \times 20}$	増殖	7.1	51.9	8.1	14.7	25.3	1.07
平均値							7.67	57.09	7.6	12.0	23.5	1.36

第5表 結核菌増殖強度阻止例

患者名	性	凝集価	赤沈	ツ反応	病型	総蛋白 g/dl	蛋白分劃				A/G	
							A1	α	β	γ		
井田	○	♂	陰性	2耗	$\frac{0}{17 \times 15}$	増殖	6.6	57.5	10.1	16.1	16.3	1.35
佐	○	♀	16倍	30耗	$\frac{14 \times 14}{35 \times 35}$	〃	8.0	55.0	9.4	14.9	20.7	1.22
小	○	♂	32倍	88耗	$\frac{0}{5 \times 5}$	空洞	7.6	47.4	12.2	16.8	23.7	0.9
宮	○	♀	32倍	8耗	$\frac{0}{10 \times 9}$	滲出	8.0	59.5	9.5	10.0	21.1	1.47
高	○	♂	64倍	10耗	$\frac{0}{30 \times 32}$	空洞	8.2	45.8	9.6	15.0	29.6	0.83
古	○	♀	64倍	73耗	$\frac{0}{25 \times 20}$	〃	8.1	51.8	7.9	11.4	27.1	1.07
平均値							7.75	52.5	10.08	14.2	23.5	1.14

第6表 ツ反応と凝集価との関係

ツ反応	凝集価	凝集価				計
		陰性	4, 8倍	16, 32倍	64, 128倍	
陰性		1	0	16	7	24
陽性		9	29	36	15	89
		10	29	52	22	113

$\text{Pr} \{ \chi^2 > 13.29 \} < 0.01$
DF = 3

第7表 赤沈と凝集価との関係

赤沈	凝集価	凝集価				計
		陰性	4, 8倍	16, 32倍	64, 128倍	
10耗以下		6	13	21	9	49
11 ~ 40		3	14	21	7	45
41耗以上		1	2	10	6	19
		10	29	52	22	113

$\text{Pr} \{ \chi^2 > 5.52 \} < 0.50$
DF = 6

区分した。表8に示すごとく、病型によつて各凝集価に違いがあるか否かを検討したが両者に差を認めなかつた。

第8表 病型と凝集価との関係

病型	凝集価	凝集価				計
		陰性	4, 8倍	16, 32倍	64, 128倍	
滲出		4	6	6	3	15
増殖		4	6	16	8	34
空洞		1	12	16	5	34
手術		2	5	8	5	20
肺外		3	0	6	1	10
		10	29	52	22	113

$$\Pr \{x^2 > 16.18\} < 0.20$$

$$D.F = 12$$

総括考按

Wright⁽⁴⁾は1924年健康人の全血液内において、結核菌は増殖することを報告したが、Wrightの報告自体が極めて簡単で人間の数、状態などについては記載が少なかつた。

1926年以後、今村門下の佐藤⁽⁵⁾、伊藤⁽⁶⁾により広く研究が行なわれた。緒方⁽⁷⁾らは健康人血液中には結核菌は増殖するが、 γ 反応陽性の強いものには菌増殖が阻止される傾向が強くと、 γ 反応陽性で菌増殖阻止されるものはすでに結核の発病者であるか、あるいは将来において発病を発見されたものが多いとのべている。

しかし他面菌増殖の判定について研究すべき問題が残されていた。健康人215例についての成績は今村らは緒方⁽⁷⁾の場合と同様であるとのべている。また疑似患者387例では大体において健康人に比べて菌増殖は少ない傾向であること、早期浸潤35例でも菌増殖が少ない傾向を示しており、軽症から中等症に進むにしたがい菌増殖は更に阻止されることを報告している。然し洪川⁽⁸⁾は、重症結核患者の全血液中には結核菌は増殖し易いことを実証している。即ち、重症患者の症状である赤沈の早いもの、白血球並びに中性白血球の増加するもの、赤血球及び血色素の減少するもの、及び γ 陰性アネルギーに傾くにしたがい菌は増殖し易いことをのべている。また、赤沼⁽⁹⁾も洪川⁽⁸⁾と同様の成績を報告している。以上は全血液内の結核菌増殖である、血清内の増殖について宝来⁽¹⁰⁾は、 γ 反応陰性と見做す健康人60例では20%は全然増殖しないものがあり、 γ 反応陽性の健康人37例では、前者に比べると一般的に増殖は不良であり、全然増殖を見ないものは33.5%であつたとのべ、また、肺結核患者54例中33例

は全然増殖陰性であるが、急性重症では増殖する傾向が多いことを認めている。Klee⁽¹¹⁾等は α グロブリンは滲出型ないし急性炎症期に増加し、 γ グロブリンは慢性活動型に増加するとのべ、肺結核患者の α と γ の変動を重視しており、洞沢⁽¹²⁾は肺結核患者の α と ϕ はある程度共通した意義をもつてであろうとのべ、A1の変動は独自の生理的意義をもつものではなく、 α 、 ϕ 、 γ に対する補償的意義を有するものではないかとのべている。花岡⁽¹³⁾は肺結核においては、 α 及び γ の変動の意義を知ることが重要であるとのべている。私は全く増殖阻止しなかつた場合と、強度に阻止した場合について蛋白分割を行なつたところ、 α 、 β 、 γ は正常値であつたが、アルブミン平均値は洞沢⁽¹²⁾がのべているような低い値ではなかつた。この事は主として病歴の差に原因するものと考えられる。赤血球凝集反応と血清蛋白については木村⁽¹⁴⁾、齊藤⁽¹⁵⁾、吉田⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾、小路⁽¹⁸⁾らは凝集価と γ グロブリンは平行するとのべ、野崎⁽¹⁹⁾は関係ない。武田⁽²⁰⁾は血清リポイドに関係するとのべている。

赤血球凝集反応と血清の結核菌増殖抑制について、吉田⁽¹⁶⁾は実験的家兎結核症について本反応凝集価とSlide cell cultureによつて全血静菌作用を観察して、両者には相関々係を認め、本反応凝集素が結核症における生体防衛反応と密接な関係を有することを結論している。尚この関係について、血清を結核菌により吸収することによつて、吸収後の凝集価は低下するのでその特異性を強調している。木村⁽¹⁴⁾、は吉田⁽¹⁶⁾がのべている全血静菌力は細胞成分が含まれているとして、結核患者血清について、Slide Culture法によつて、本反応凝集価と発育阻止力について両者の関係をもとめるところ相関々係が認められたとのべている。

結核患者113例中Tw80と協同作用を示した例は血清稀釈100倍は27例、500倍は6例であつた。その原因を知るため種々検討を行なつたが、特記する程の結果は得られなかつた。またこの作用が血清の蛋白分割に関係あると考えられるので⁽²⁾、血清の分割と病型との関係に関しては特に注意して究明したのであるが、例数が少ないためか確実な根拠を得るに至らなかつた。

赤血球凝集反応と γ 反応との関係は吉田⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾は両者に関係は認められないとのべている。一方木村⁽¹⁴⁾は、両者に平行関係を認めている。

赤沈と赤血球凝集反応凝集価の関係は矢追⁽²¹⁾は両者に関係があり、Hinson⁽²²⁾その他は関係がないという。病型と赤血球凝集反応凝集価についても、伊藤⁽⁶⁾は軽症では凝集価低く、中等症以上は高く、病型との間に

有意の差を認めている。一方, Howard^{②⑦}, Hinsin^{②⑧}, 吉田^{②⑨}は病型との間に差がなく, 結核の診断予後には価値がないとのべている。ここに示した成績は上記実験に附随したものである。従つて, 私はこの点に関しては特に云々はしない。

結 論

私は結核患者113例について, 結核菌に対する血清の Tw80 との協同作用につき検討を行なつたところ次の結論を得た。

I) 結核患者血清と Tw80 との協同作用によつて結核菌の増殖を阻止したものは, 血清稀釈50倍は113例中82例, 100倍は27例, 500倍では6例であつた。

II) 血清100倍の稀釈では, その阻止力は, ツ反応, 赤沈, 病型とは関係なかつた。500倍稀釈では赤血球凝集反応凝集価とは関係なかつた。

稿を終るに臨み終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた田崎教授に深く感謝します。また国立上田療養所伊藤所長他職員一同, 衛生学教室広沢講師に御礼を申し上げます。

参 考 文 献

- ①柳沢雄次: 信州医誌 8; 2354, 昭34. ②柳沢雄次: 信州医誌 9; 281, 昭35. ③熊谷直秀: 日新医学 38; 481, 昭26. ④Wright, A. E.: Lancet 2; 218, 1924. ⑤佐藤理太郎: 実験医学雑誌 10; 871, 大15. ⑥伊藤種次郎: 結核 8; 291, 昭5. ⑦緒方準一: 結核 10; 247, 昭7. ⑧今村荒男・他: 結核 11; 210, 昭8. ⑨波川隆曹: 結核 11; 63, 昭8. ⑩赤沼茂芳: Tohoku, J. Exp. Med, 26; 121, 1955. ⑪宝来善次: 結核 17; 621, 昭14. ⑫Klee, P., Hörlein, H.: Deutsch. Med. Wschr. 77; 525, 1952. ⑬洞沢 茂: 結核 33; 755, 昭33. ⑭花岡寿雄: 信州医誌 8; 656, 昭34. ⑮木村良知: 総合臨床 5; 53, 昭31. ⑯木村良知・他: 結核 32; 366, 昭32. ⑰斎藤典植: 結核 31; 95, 昭31. ⑱吉田清一: 結核 29; 134, 昭29. ⑲吉田清一: 結核 31; 563, 昭31. ⑳吉田清一: 東京医事新誌 68; 23, 昭26. ㉑小路 弘: アレルギー 1; 16, 昭27. ㉒野崎幸久: お茶の水医学雑誌 1; 81, 昭28. ㉓武田直良: 抗酸菌研究誌 11; 2, 昭28. ㉔久迫秀武: 総合医学 8; 109, 昭26. ㉕伊藤忠雄: 慶応医学 30; 291, 昭28. ㉖Hinson, K. F. W.: Brit. J. Tuberc. 46; 50, 1952. ㉗Howard, M.: Dis. of Chest 24; 226, 1950. ㉘Aull, J. G. & Mccord W. M.: J. Lab. clin. Med. 46; 476 1955.