

〔特別掲載〕

(東京女医大誌 第30巻 第10号)
頁2048—2050昭和35年10月非定型抗酸菌と放線菌特に *Nocardia* との
抗原関係について

東京女子医科大学細菌学教室 (主任 平野憲正教授)

奈 良 知 加 子
ナ ラ チ カ コ

(受付 昭和 35 年 8 月 29 日)

著者はさきに平野, 須子田, 松田ら¹⁾とともに, 土壌から分離した抗酸菌の Youmans 培地における培養液とヒト型結核菌 H 37 Rv, BCG, 非定型抗酸菌 4 (磯川) らの免疫血清と Ouchterlony 法によつて抗原関係を檢したところ, BCG, 非定型抗酸菌らの免疫血清と土壤抗酸菌の抗原との間には沈降帯が現れたが, この抗原と H 37 Rv 免疫血清との間には反応が起らなかつたことを認めた。その際用いた土壤抗酸菌中には, *Nocardia* らしいものもあつたが, 抗酸菌と同様の反応を示した。Schneidau and Shaffer²⁾ は *Nocardia* と他の Actinomycetales との抗原関係をガラス板凝集反応によつて研究した際, 抗酸菌も研究に用いたが, 非定型抗酸菌についてはふれるところがなかつた。本研究はヒト型結核菌 H 37 Rv, BCG および非定型抗酸菌らの免疫血清と抗原として *Nocardia* および *Streptomyces* の培養液とをもつて Ouchterlony 法を行い, これらの菌相互間の抗原関係を検討したものである。

実験材料と実験方法

実験に用いた菌株と免疫血清: 上述したように, 結核菌としては H 37 Rv と BCG とを用い, 非定型抗酸菌としては, かつて長田³⁾ が分離した岩井, 長谷川, 市原, 磯川, 大成の 5 株を用いた。この 5 株は平野および須子田⁴⁾ の研究によると, 血清学的 (Ouchterlony 法) に均一型のものである。

免疫血清は上記の菌を馬血清加 Youmans 培地に 4 ~ 5 週間培養し, 後約 1/10 に 60~65°C のゆぶね上で濃縮し, 菌膜は滅菌した硝子玉入コルペンにとり, 約 30 分間手振りでエムルジョンとし, これに濃縮した培養液を加え, さらに adjuvant として一定量の流動パラフィンを加え, ウサギの皮下に接種して免疫したものである。

Nocardia としては *N. comvoluta* (1), *N. corallina* (2), *N. lutea* (3), *N. asteroides* (4), *N. erythropolis* (5) の 5 株, *Streptomyces* としては *St. viridochrogenus*, *St. griseus* A₃, *St. lavendulae* 22A, *St. pheochromogenus* H 123, *St. fradii* u-170, *St. reticulatus-ruber* K 928, *St. celluloflavus* 39a, *St. vineus*, *St. rimosus*, *St. reticuli variant*, *St. thioluteus* u. 280-3, *St. lavendulae* 93-4 の 12 株を用いた。

Nocardia, *Streptomyces* とともにヒト血清加 Youmans 培地および普通ブイヨンに培養し, 1~2 カ月後それらの培養液を抗原として用いた。ただし, *Streptomyces* は Youmans 培地に発育不良だつたので, 今回はブイヨン培養における培養液のみを抗原として用いた。

Ouchterlony 法: Wilson and Pringle⁵⁾ の記載に従つた。すなわち, ベトリ皿に 0.8% 寒天 6 cc を流し, 固つてからその上にステンレスのカップを立て, さらに 15 cc の寒天を流注し, 固つてからカップをとり, 一定期間氷室においてから, 図に示すように, 中央の凹みに免疫血清を, 周囲の凹みに抗原を入れ, 室温に静置して, 沈降帯の出現を 3 週間観察した。

本実験においては免疫血清と 5 株の *Nocardia* 抗原との反応を同時に同一条件のもとに観察しようとしたため, 免疫血清と同種抗原との反応を同時に観察することを省略した。

成 績

H 37 Rv の免疫血清は自己の抗原と 4 本の沈降帯を生ずる, しかし, *Nocardia* との沈降帯はいずれも 1 本で著明な反応ではなかつた。H 37 Rv を畢丸に接種し, 著

本実験に用いた *Nocardia* および *Streptomyces* は北里研究所秦博士より分与された。

Chikako NARA (Department of Bacteriology, Tokyo Women's Medical College) Antigenic relationships between atypical mycobacterium and actinomycetales with special reference to nocardia.

第1表 H 37 Rv, BCG 及び非定型抗酸菌免疫血清と Nocardia 抗原による Ouchterlony 法

免疫血清	Nocardia				
	1	2	3	4	5
H 37 Rv	+ (1)	+ (1)	+ (1)	+ (1)	+ (1)
BCG	+ (1)	+ (1)	+ (1)	+ (1)	+ (1)
非定型抗酸菌	岩井	+ (1)	+ (2)	+ (2)	+ (2)
	長谷川	+ (1)	+ (1)	+ (1)	+ (1)
	大成	+ (1)	+ (1)	+ (1)	+ (1)
	磯川	+ (1)	+ (1)	+ (2)	+ (2)
	市原	+ (1)	+ (1)	+ (1)	+ (1)
W. 13	-	+ (2)	+ (1)	+ (2)	-

括弧内の数字は沈降帯の数を示す (図1参照)

株とは2本の反応帯を示した。非病原性抗酸菌 W. 13の免疫血清は N. corallina 及び N. asteroides と反応帯の位置を異にするけれども、各々2本ずつの沈降帯を示し、N. lutea とは1本、N. convoluta と N. erythropolis とは反応しなかつた。W. 13の免疫血清は自己の抗原と1本の反応帯を生じたただけであつた。本実験に用いた免疫血清とそれに対する同種抗原との反応帯については、平野及び須子田りによつて報告されている。

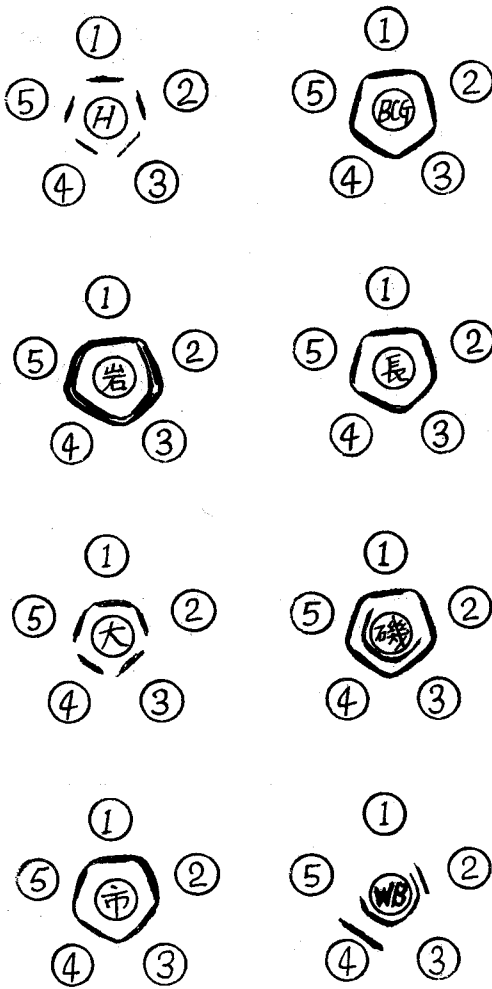
ブイヨン培養液を抗原とした場合には、培養後1~2カ月の間に検査した結果によると、大成免疫血清だけが沈降帯を示し、N. convoluta の抗原とは反応しなかつたが、他の4株の抗原とは各1本沈降帯を生じた。しかし、他の免疫血清との間には反応が現れなかつた。

Streptomyces を抗原とした実験では全部陰性で反応帯は見られなかつた。

考 案

Nocardia の内、N. asteroidesが結核菌と共通の抗原を有することは、すでに知られている。最近 Schneidau and Shaffer²⁾ は H 37 Rv の免疫血清によつて N. asteroidesばかりでなく、N. cuniculi, N. brasiliensis 及び N. corallina に属するある株の抗原も、僅かながら凝集されることを認めた。著者の実験によると、実験に用いた5株の Nocardie が、H 37 Rv, BCG 及び非定型抗酸菌のいずれの免疫血清とも反応した。また非病原性抗酸菌 W. 13 の免疫血清は N. convoluta 及び N. erythropolisとは反応しなかつたが、その他の Nocardia とは反応して1本或は2本の沈降帯を生じた。これらの成績は未だ分類学上その地位の明かでない非定型抗酸菌にとつて重要な新見解が加えられたものと思う。

H 37 Rv の免疫血清は同種抗原と4本の沈降帯を示すけれども、Nocardia の抗原とは1本である。これは H 37 Rv との共通抗原を Nocardia は1つもつていているということによつて解釈される。BCG, 市原, 長谷川, 大成株



第1図

- H...H 37 Rv; 岩...岩井; 長...長谷川; 大...大成; 磯...磯川; 市...市原
- 1. N. convoluta, 2. N. corallina
 - 2. N. lutea 4. N. asteroides
 - 5. N. erythropolis

明な結核病変を起したウサギの血清を用いた場合には沈降帯が見られなかつた。BCG 免疫血清と Nocardia の5株の抗原とは著明な沈降帯が現れた。BCG免疫血清は BCG 抗原と3本の沈降帯を生ずる、しかし、Nocardia との反応は各1本であつた。非定型抗酸菌、市原、長谷川、大成の免疫血清は各 Nocardia と各1本の反応帯を生じたが、市原の免疫血清は市原の抗原と2本、長谷川の免疫血清は長谷川抗原と4本、大成の免疫血清は大成抗原と4本の沈降帯を生ずる。岩井の免疫血清は岩井の抗原と1本の沈降帯を示すだけだが、Nocardia の各菌株の抗原とは2本ずつ反応帯が現れた。また磯川の免疫血清は自己の抗原と3本の沈降帯を生ずる。しかし、N. convoluta 及び N. corallina とは各1本、他の3

と *Nocardia* との間における共通抗原も1つと考えられる。勿論これは1本の沈降帯は1コの抗原と1コの抗抗体による反応であると仮定してのことである。岩井免疫血清は岩井抗原と1本の反応帯を示すのみだが、*Nocardia* とは2本である。このことについては今後の検討を要する。

Streptomyces については Ludwig and Hutchinson⁹⁾, Hata Ohki, Yokoyama, and Koga⁷⁾, Yokoyama and Hata⁸⁾らの研究がある。それによると *Nocardia* と *Streptomyces* とは免疫学的に多少の関係があり、また抗酸菌と“真の *Nocardia*”との交叉反応は稀にみられかつ低いという。著者のこれに関する研究は不完全なものであるから、これから結論を出すことは不可能であるが、*Streptomyces* はブイヨン培養では良く発育するけれども、その培養液を抗原としたのでは陽性の成績は得られなかつた。*Nocardia* をブイヨンに培養した場合にも、その培養液を抗原としたのでは多くの場合に陰性だつた。したがつて非定型抗酸菌と *Streptomyces* との抗原関係を研究するには、適当な培地を選び再検討の必要がある。

結 論

人型結核菌 H 37 Rv, BCG, 非定型抗酸菌らの免疫血清と *Nocardia* 及び *Streptomyces* の培養液を抗原として Ouchterlony 法を行い次のような成績を得た。ただし、*Nocardia* の場合にはヒト血清加 Youmans 培地及びブイヨンに培養した培養液、*Streptomyces* においてはブイヨン培養液を抗原として用いた。

1. 本実験に用いたすべての *Nocardia* が Youmans 培地に培養し、その培養液を抗原とした場合には、ヒト型結核菌 H 37 Rv, BCG, 非定型抗酸菌5株の免疫血清と反応し1~2本の沈降帯を作つた。非病原性抗酸菌

W. 13の免疫血清は *N. corallina*, *N. lutea* および *N. asteroides* の抗原と反応したが、その他の株の抗原とは反応しなかつた。従来 *Nocardia* の内、結核菌と共通抗原をもっているのは *N. asteroides* のみといわれていたが、本研究の成績からみると、多くの *Nocardia* が結核菌及び非定型抗酸菌と共通抗原をもっているように思われる。

2. *Streptomyces* はブイヨン培養液を抗原としたのでは、ヒト型結核菌, BCG, 非定型抗酸菌の免疫血清と反応しない。培地を改良し、再検討を要する。

本稿を終るにのぞみ、御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた平野憲正先生に深謝し、また実験に当つて常に多大の御援助を賜つた講師須子田キヨ先生に厚く感謝致します。

文 献

- 1) 平野憲正, 須子田キヨ, 松田小風子, 奈良知加子: 医学と生物学 56 105 (昭和35)
- 2) Schneidau, J. D. Jr. & Shaffer, M. F.: Amer. Rev. Tuberc., 82 64 (1960)
- 3) 長田富香: 日細菌誌 15 74 (昭和35)
- 4) Hirano, N. & K. Sushida: Japan. J. Microbiol., 印刷中
- 5) Wilson, M.W. & Pringle, B.H.: J. Immunol., 73 232 (1954)
- 6) Ludwig, E.H. & Hutchinson, W.G.: J. Bact. 58 89 (1940)
- 7) Hata, T., Ohki, N., Yokoyama, Y. & Koga, F.: Kitasato Arch. Exp. Med. 25 201 (1953)
- 8) Yokoyama, Y. & Hata, T.: J. Antibiot (A), 6 80 (1953)