

肺結核患者血清および実験的感染動物血清 における Necrotizing factor 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)

中 野 寿 夫
ナカ ノ ヒサ オ
講師 須 子 田 キ ヨ
ス シ ダ キ ヨ
弥 吉 真 澄
ヤ ヨシ マ スミ

(受付 昭和38年8月30日)

序 論

1956年, Menkin により結核患者血清中にモルモットの皮膚に壊死またはそれに近い炎症を起させる因子(Necrotizing factor)が存在する事が発見され,それを Necrosin と呼んだ.またそれ以前1954年に同様の物質がリウマチ熱やリウマチ関節炎の患者の血清中にも認められることを Küster が報告し,同年 Lovell, Pryce, Boack^{1,2)}が種々の疾病の患者血清について行なった実験について報告している. さらに Lovell, Klemperer³⁾らは患者血清を使用して Necrotizing factor について病理学的, 生化学的に詳しく解明しようとしている.

それによれば結核患者の血清をモルモットに皮内注射を行なえば, 5~30分で注射部位に変化をおこし, Necrosisかそれに近い状態になる. 本物質は易熱性で27°C, 5時間, 56°C, 15分以内に簡単にその作用を失うものであり, 電気泳動分画を行なうとβとγ-グロブリンの位置に一致する. また Chone の γ-グロブリン分画法によれば, Fraction III (abc) に Necrotizing factor が存在するという. また Klemperer, Fried, Stark は結核患者のみならずリウマチ, 悪性腫瘍, その他数

種の疾病について Necrotizing factor の証明を行なっている.

著者らは結核患者の血清をモルモットの皮内に注射して起る反応は Arthus 現象に似ているが, 事前に抗原の接種を行なわなくても Necrose が現われる点, Arthus 現象とは本質的に異っているようであり, その本質を追求することは興味あることと思われたが, まず結核患者における Necrotizing factor の陽性率はどうか, またすでに報告されているように反応の強さが疾患の軽重に一致するかどうかを追求すると同時に, 結核菌と共通抗原を有するライ患者血清についても同様の実験を行ない, この両者を比較してみたいと思い, 今回は結核患者血清について実験を行ない, さらに結核菌あるいは鼠ライ菌に実験的に感染させた動物の血清を用いて Necrotizing factor の実験を行なったので報告する.

実験材料および実験方法

実験材料: 実験に用いた肺結核患者血清は, 昭和37年8月に東京女子医科大学病院に入院中の患者, 男女44名より採血したものであつて, 対照として健康人9名の血液を同様に採血し使用した.

実験的感染動物は, 普通寒天およびグリセリンを加え

Hisao NAKANO, Kiyō SUSHIDA, Masumi YAYOSHI (Department of Bacteriology, Tokyo Women's Medical College): Study on necrotizing factor in sera of pulmonary tuberculous patients and of experimental tuberculous and murine leprous mice.

表1 Necrotizing Factor Test 個人成績表 (結核患者血清)

血 番	清 号	患 者 名	性 別	モ ル モ ッ ト 皮 内 反 応					非 血 化 清	判 定	
				1			2				
				モ ル モ ッ ト 番	24hr.	48hr.	モ ル モ ッ ト 番	24hr.			48hr.
1	N. A	♂	A-1	+(+)	+(#)				-	+	
2	K. S	♀	"	+(#)	+(#)				-	+	
3	M. T	♀	"	##(##)	+(#)				-	+	
4	I. M	♀	"	- (##)	- (#)				-	-	
5	S. M	♀	"	+(##)	+(##)				-	+	
6	N. N	♂	A-2	+(#)	+(##)	B-1	+(##)	+(##)	-	+	
7	U. Y	♀	"	+(#)	+(##)	"	+(##)	+(##)	-	+	
8	I. S	♀	"	- (##)	- (-)	"	- (-)	- (-)	-	-	
9	K. N	♀	"	+(##)	+(##)	"	+(##)	+(##)	-	+	
10	A. E	♀	"	+(##)	+(##)	"	##(##)	##(##)	-	+	
11	K. S	♂	A-3	- (-)	- (-)	"	##(##)	##(##)	-	+	
12	S. S	♂	"	- (-)	- (-)	"	+(##)	- (##)	-	+	
13	K. N	♀	"	- (-)	- (-)	"	- (##)	- (##)	-	-	
14	S. S	♀	"	- (-)	- (-)	"	##(##)	+(##)	-	+	
15	T. T	♀	"	- (-)	- (-)	"	##(##)	##(##)	-	+	
16	M. Y	♀	A-4	- (#)	- (#)	B-2	- (#)	- (#)	-	-	
17	A. K	♂	"	+(#)	+(#)	"	+(#)	+(#)	-	+	
18	S. T	♂	"	- (-)	- (-)	"	- (+)	- (+)	-	-	
19	M. S	♀	"	- (-)	- (-)	"	- (+)	- (#)	-	-	
20	O. K	♂	"	- (#)	- (+)	"	- (+)	- (#)	-	-	
21	M. Y	♂	A-5	+(#)	+(#)	"	+(#)	+(+)	-	+	
22	Y. M	♀	"	- (+)	- (+)	"			-	-	
23	S. T	♀	"	##(##)	+(#)	"	- (-)	- (-)	-	+	
24	S. I	♂	"	##(##)	+(#)	"	- (#)	- (#)	-	+	
25	T. K	♂	"	##(##)	+(#)	"	- (#)	- (#)	-	+	
26	S. Y	♂	A-6	- (#)	- (#)	B-3	- (#)	- (+)	-	-	
27	E. M	♂	"	- (-)	- (-)	"	- (#)	- (#)	-	-	
28	H. K	♂	"	- (#)	- (#)	"	+(#)	+(#)	-	+	
29	Y. I	♂	"	- (#)	- (-)	"	- (+)	- (+)	-	-	
30	K. H	♂	"	- (#)	- (-)	"	- (-)	- (-)	-	-	
31	K. I	♂	A-7	- (#)	- (-)	"	- (#)	+(#)	-	+	
32	A. N	♂	"	- (+)	- (-)	"	- (+)	- (+)	-	-	
33	A. H	♀	"	+(#)	+(#)	"	+(#)	+(##)	-	+	
34	T. K	♂	"	- (-)	- (-)	"	+(#)	+(#)	-	+	
35	T. K	♂	"	- (-)	- (-)	"	- (#)	- (#)	-	-	
36	I. G	♂	A-8	- (+)	- (-)	B-4	- (-)	- (-)	-	-	
37	H. K	♀	"	- (#)	- (#)	"	- (-)	- (-)	-	-	
38	S. S	♂	"	##(##)	+(#)	"	##(##)	+(##)	-	+	
39	Y. T	♀	"	##(##)	##(##)	"	##(##)	##(##)	-	+	
40	H. K	♀	"	- (#)	- (#)	"	- (-)	- (-)	-	-	
41	Y. M	♂	"	+(#)	+(#)	"	+(#)	- (+)	-	+	
42	A. M	♂	"	##(##)	##(##)	"	+(##)	##(##)	-	+	
43	O. K	♀	"	##(##)	##(##)	"	##(##)	##(##)	-	+	
44	S. E	♂	"	##(##)	+(##)	"	- (##)	- (#)	-	+	

成績は24時間、48時間後の Necrosis の大きさを示す。()内は発赤の大きさを示す。

表2 Necrotizing Factor Test 個人成績表 (健康人血清)

血番	清号	氏名	性別	モルモット皮内反応					非働化血清	判定	
				1		2					
				モルモット番号	24hr.	48hr.	モルモット番号	24hr.			48hr.
1	K. N	♀	♀	A-9	- (+)	- (-)	B-5	- (-)	- (-)	-	-
2	K. S	♀	♀	"	- (-)	- (-)	"	- (+)	- (-)	-	-
3	M. Y	♀	♀	"	+ (卅)	+ (卅)	"	- (-)	- (-)	-	+
4	H. N	♂	♂	"	卅 (卅)	卅 (卅)	"	- (卅)	- (-)	-	+
5	K. N	♀	♀	"	- (卅)	- (卅)	"	- (-)	- (-)	-	-
6	H. T	♀	♀	A-10	- (卅)	- (卅)	"	- (-)	- (-)	-	-
7	Z. K	♂	♂	"	- (-)	- (+)	"	- (-)	- (-)	-	-
8	Y. M	♀	♀	"	- (+)	- (+)	"	- (-)	- (-)	-	-
9	A. I	♀	♀	"	- (卅)	- (+)	"	- (-)	- (-)	-	-

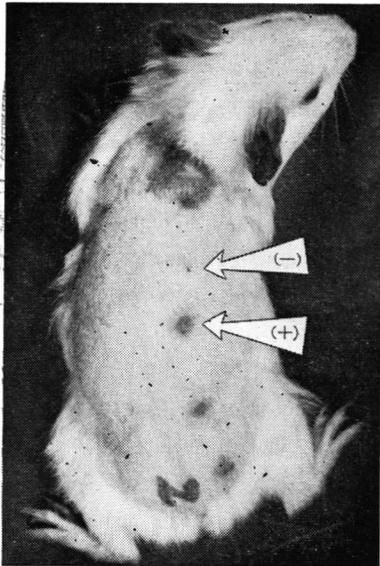


図1 結核患者血清の Necrotizing Factor Test 注射後48時間経過したもの。←印(+)は反応陽性で Necrose が見られる。←印(-)は反応陰性で反応がない。左方は対照実験群を皮内注射した。



図2 実験的感染動物の Necrotizing Factor Tset 脱毛部に血清を皮内注射してあるが、図1に見られるような反応は全くない。

表3 肺結核患者血清における Necrose の産生成績がモルモットにより異なる例

モルモット番号		人数
1	2	
-	+ or 卅	7名
卅	-	2名

た合成培地に数回継代し、やや、弱毒化した結核菌 H₃₇R_v を接種して4週を経過したモルモットであつて、その血液を心臓穿刺により採血した。またライ感染動物は dd 系マウスであつて、鼠ライ Hawaii 株と LL₂ 株 (人ライ菌をマウスの睪丸内に接種し増殖、継代を認めたが、レプロミン反応により鼠ライ菌と考えられるもの)⁴⁾ をそれぞれ dd 系マウスに接種後6カ月を経過し、ライ性病変が認められたものから心臓穿刺により全採血し使用した。

表4 各種抗酸菌を接種した動物血清における
Necrotizing Factor Test 成績

菌 株	動物種	反 応		非働化 血清	判 定
		24時間	48時間		
H ₃₇ Rv (弱毒) 3.0mg	モルモット	1	—	—	—
		2	—	—	
		3	—	—	
		4	—	—	
Hawaii (ソライ)	マウス	1	—	—	—
		2	—	—	
		3	—	—	
		4	—	—	
LL ₂ (ライ菌)	マウス	1	—	—	—
		2	—	—	
		3	—	—	
		4	—	—	
対 照	マウス	1	—	—	—
		2	—	—	
	モルモット	1	—	—	
		2	—	—	

実験方法： 採血した血液は室温で凝固させ、凝固後直ちに4℃氷室に2時間入れて血清を分離せしめた。分離した血清は2等分し、1つはそのまま、他方は対照実験として56℃、30分加温し、不活化してNecrotizing factor以外の物質による反応がないかを確認するために使用した。これら2種の血清は、前もつて硫化バリウム・小麦粉混合脱毛剤で、脱毛した白色モルモット(250～400g)の背中に、左右対称の位置にそれぞれ0.1mlずつ皮内注射し、その反応を観察した。

判定方法： ツベルクリン反応の判定と同様に、図1に示す如くに生じたNecrosisの大きさを24時間、48時間後に測定し、その平均値が1～5mmのものを(+)、6～9mmのものを(++)、10mm以上のものを(+++)とし陽性とした。さらに発赤の部分も参考として測定記入した。壊死またはそれに近い炎症を全く起していないものを陰性(—)とした。なお同一患者血清を、2頭のモルモットの皮内に別々に注射し、動物の個体差による成績の差を考慮しつつ観察を行ない、2頭中いずれかに反応の現われたものを陽性と判定した。

実験成績

1. 結核患者および健康人血清における成績は表1、表2、の如くである。1人の患者に用いられた2頭のモルモットの成績は、大部分の患者において大凡同程度の成績を示したが、患者血清No.11～15血清を注射したA-3モルモットにおいては全く反応が認められなかったが、同一血清を注射したB-1モルモットでは血清No.11, 12, 14, 15、では

+～++のNecrosisを生じ、No.13もまた著明な発赤が認められた。患者血清No.23～25血清を注射したものでは、A-5モルモットで+～++のNecrosis、および発赤のみを示すものなど、いずれも陽性を示し、B-2モルモットではNo.21血清のみはNecrosisおよび発赤が認められたが、他の4血清ではNecrosisが認められず、発赤のみが認められた。このように動物の個体差の影響が多かれ少なかれ存在すると考えられる。この他の例においても表3の示す如く、1群のモルモットでは(—)のものが、2群で(+)～(++)に増したものの7名、1群で(++)のものが2群で(—)になったもの2名あった。本実験では実験したモルモットのいずれかにNecrotizing factorが陽性に出たものについてその陽性率、反応の強さなどについて検討を行なった。患者血清44例中Necrotizing factorが陽性のもの27名(陽性率61.3%)、陰性17名(陰性率38.7%)で、反応の強さは殆ど大部分のものは24時間後に最高に達した。また発赤の大きさはNecrosisの大きさと同ほ一致しており、Necrosisのそれより大きいものもあり、またNecrosisを生ぜず発赤のみ認められたものもあつた。

患者血清を2分して、非働性にしたものにはNecrotizing factorの反応は認められなかつた。

対照として健康人血清9名について行なった実験成績は表2の如くで、Necrosisを認めたもの2名、陰性7名で、それらのうち1名を除き他には発赤が認められた。この陽性患者2名は現在結核性疾患は認められない。

2. 実験的感染動物の血清についての実験。

成績は表4、図2の如くである。わずかに発赤を呈するものがあつたのみで、全くNecrotizing factorは認められなかつた。これら実験的感染動物については、反応を観察した後、剖検を行なった結果、明らかに結核およびライ性の病変が認められた。

考 察

1961年 Klemperer ら³⁾は結核患者にNecrotizing factorの検討を試み、その陽性率が65.2%。

であったと報告している。われわれも本実験でそれにほぼ近い61%という値を得た。しかしこの反応については、動物の個体差が非常に影響することが考えられるので、使用するモルモットは少なくとも2頭以上について反応を試みなければならないと考える。また Necrotizing factor の発生機序については、本実験においては何ら解明するものではないが、健康者9名中2名に、殊にうち1名の血清においてはかなり著明な Necrosis を生じた点、また諸家の報告にあるように、結核以外の疾患においても証明されることなどから、この問題は単純なものではないように思われる。

さらにこのことは、実験的感染動物では全く反応が認められない事からも、この問題の複雑さがうかがわれる。

本実験成績と臨床症状の関係については、三神内科から報告する予定であるが、文献によれば、反応陰性患者はすべて抗生物質の治療をうけており、結核以外の疾病でも炎症性の病巣の認められる者は Necrotizing factor が陽性に出ると報告され、われわれの実験においては、反応陽性者は臨床症状に活動性を示す者がやや多い程度であった。比較的反応の強く現われた患者のうち9名は、臨床症状所見も著明であり、炎症性病巣があれば血清中に Necrotizing factor が増加してくる事が示されており、結核の軽重と Necrotizing actor の反応の間には多少の関係のある事がうか

がわれるが、反応陽性者の中には全く臨床症状の欠けている者もあり、簡単に結論できない。

結 論

1. 肺結核患者血清をモルモットの皮内に接種し、60%以上の血清に Necrotizing factor を証明し得た。著明な臨床症状を有する活動性結核患者には陽性率がやや高く、本反応の陽性成績と臨床症状とは比例する者が多かつた。

2. 健康者血清の中にも Necrotizing factor を認められるものがあつたが、その陽性率は低い。

3. 実験的感染動物（鼠ライ感染マウスおよび結核感染モルモット）の血清には、モルモットに対する Necrotizing factor を証明できなかった。

終りにあたり御指導をいただいた細菌学教室、平野憲正教授、ならびに実験に御協力をいただいた三神内科、三神美和教授、小山千代教授ならびに竹内富美子助手に深謝致します。

（本論文の要旨は昭和88年5月、東京女子医科大学会第120回例会において発表した。）

文 献

- 1) Lovell, R.R.H., Pryce, D.M. and Beake, W.C.: Brit J Exp Path 35 345 (1945)
- 2) Beake, W.C. and Lovell, R.R.H.: Brit J Exp Path 350 (1945)
- 3) Klemperer, F., Fried, R. and Stark, K.: Brit J Exp Path 116 (1962)
- 4) 平野・須子田・中野：人ライ菌のマウス睪丸周囲への接種試験，第36回日本ライ学会発表（1963）