

論 文 内 容 要 旨

Shepard(1960)は人糞菌をマウスの足蹠内に接種し2~7か月の後に顕微鏡的なものながらそこに限局所の菌増殖が見られる事を報告し、各方面の追試により広く認められるようになってきた。

しかし菌株による感染力の差や、全体としての成績にバラツキの多い事などの点でなお多少批判の余地があるが、累代も可能で組織学的にも慢性肉芽腫を作ることは確実である。この実験で興味ある事は $10^2 \cdot 10^3$ 単位の菌接種で $10^5 \sim 10^6$ 程度まで増殖するが 10^7 になる事は極めて稀である事、 $10^6 \cdot 10^7$ 単位の大量の菌を接種しても計算上の菌増殖がないなどの点である。これらの現象は局所で発生する免疫によるものかどうか、また全身性感染を起す可能性はどうか、などの点を解明するために菌接種マウスの血漿蛋白質の変動を調べた。対照としてマウスに全身性感染を起し、死に至らしめる鼠糞菌と、毒力の低下によりある程度の病変しか起さない *Mycobacterium balnei* や、更に弱毒の *M. marinum* および *M. platypoecilus* を用いた。

材 料 お よ び 方 法

使用動物；東北大マウスセンター飼育の dd 系マウス（特に病原性細菌による汚染は實際上否定してよいもの）、ごく一部は坑研極部門飼育の C₅₇BL を使用した。

使用菌株；菌：未治療または休養中の活動性の患者26名の膿腫から得た。 10^2 以下から 10^7 程度の菌を0.03mlの生食水とともにマウスの足蹠内に接種した。接種後6か月以上経過したものから足蹠の軟部を切除し、乳鉢内で充分すり潰し、1mlの水で均等な懸濁液をつくり、その0.01mlをスライド上に1cmにひろげて塗抹し、このスライド2枚から700視野以上検鏡して1視野平均菌数から足蹠内の菌を計算した。鼠糞菌；主としてハワイ株を用いた。足蹠又は腹部皮下に鼠糞腫よりの菌（100倍液、0.03ml）を接種した。*M. balnei*、*M. marinum*、*M. platypoecilus* の三株は $1mg/ml$ の菌液を作り、その0.03mlをマウスの足蹠内に接種した。

抗血清；1)抗マウス血漿家兎血清；健康な dd マウス100頭から採ったヘパリン血漿と Freund's complete adjuvant を等量に混和して家兎に毎週1回、計4回注射し、抗体価の上昇を確かめてから全採血して血清を分離した。2)抗マウスアグロブリン家兎血清；プールされたヘパリン血漿から硫酸塩析法によつて euglobulin を分離し、1)と同様に家兎を

免疫して作った。

免疫電気泳動法；Scheidtgerの微量寒天板法により，取枠1個（スライド4枚）に対し20mAの定電流で60分間通電して行つた。その後，抗血清を切つて上述の抗血清を満し24～48時間後に沈降線の判定を行つた。正常マウスの血漿に対して16～18本の沈降線が得られたが抗血清は家兎の個体による差が少くないので，各沈降線はアミドブラック10B，メダンブラック， α ナフトール等で染色し，リボ蛋白，糖蛋白を大別した後，血漿にSephadex G-200を用いたゲル濾過を行ない，0.5mlずつ溶出液を分取し，その各々について紫外部吸収の測定と免疫泳動を行ない，また各分画の吸収試験によりそれぞれの沈降線の同定を行つた。

結 果 の 要 約

1) *M. balnei*, *M. marinum*, *M. platypoecilus*の三株の中では*balnei*が最も毒性が強く，局所の腫張のほか淋巴腺・内臓からも菌が証明されるが，血漿蛋白質では接種後2か月目にトランスフェリンと γ Gの増大が認められた。他の二株では毒性が弱く，軽い腫張を生ずるが病変は自然消褪する。免疫泳動によるとこれにも γ Gの増量があり，局所で菌が殆ど消滅した後でも長期にわたりそのレベルが保たれることが判つた。

2) 鼠癩菌は病原性がつよく常に進行性であり，局所の腫張は3か月目頃から顕著となり，6か月後には歩行困難，潰瘍化をおこし内臓にも病変が及び全身感染に至るが，血漿蛋白質にも多くの変動がみられる。これはtransferrinと γ Gの増大からはじまり，9か月後の重症マウスではこの外haptoglobin, β_2 G globulin, γ M, α_1 lipoproteinの増大があり，albuminは多少減量して移動度の高まっていることが観察された。従来濾紙電気泳動により β 領域のglobulinの増大は知られていたが，免疫泳動によりこれを詳細に解析することが出来た。また以前に報告のなかつた γ Gの変化はよく管理された病原性細菌の汚染のないマウスを使用した事により鋭敏に検出できたものと考えられる。

3) 癩菌接種マウスでは足趾に何ら肉眼的変化が起らない。たゞ菌数計算によつて接種菌の増殖には少くとも5～6か月以上を要することが判るのみである。そこで接種後6か月以上を経過したものについて接種局所の菌数と血漿の泳動パターンとの関係を調べてみた。しかし鼠癩菌のように著しいものはなく， γ Gと γ Mに変化が見られたのみであつた。特に γ Gは増量するものが多く，初代接種マウス86頭中75%，継代接種マウス89頭中64%に増量が認められた。そこで局所における菌数計算の結果との関係をみると，接種量より1桁以上増菌のあつた初代群9例では全例，継代群26例中23例に γ Gの増加があつた。しかし菌の減少または消滅したもので γ Gの増しているものが少くなかつた（初代群72%，継代群59%）。*M. marinum*で観察されたように， γ Gレベルは一度上昇すると長期にわたつてそのレベルが保たれるものと考えられる。また γ Mについては γ Gの上昇とともに増量しているものが多かつた。しかし増菌陰性例で γ Gが増加したものの80%以上で γ Mのレベルの上昇があつたが，増菌例で γ G増加に γ Mの増量がともなつたのは初代群で20%，継代群で35%にすぎなかつた。即ち，癩菌接種マウスで増菌例では多く γ Gの増強があつたが増菌陰性例でも γ Gレベルの上昇を示すものが少くなかつた。しかも前者では γ Mの低いものが多く，後者では高いものが多いと云う逆の現象が γ Gと γ Mの間に見られた。

審査結果の要旨

鼠の動物移植は現在未だ確実に成功していないが、Shepard が行つたマウス足蹠内接種では多少のパラッキはあつても局処で増菌する例のあることは確実である。併し、この場合肉眼的病変が見られないので、免疫学的手段で感染の有無又は可能性を知ろうと考えて本実験を行つたものである。対照としては、マウスに致命的進行性病変を起す鼠蹠菌とマウスに極めて軽い病変しか起さない抗酸菌 *M. balnei*, *M. marinum*, *M. platypocillus* (S_p 株) を用いた。最後の 2 株は魚の所謂結核菌として知られたもので、記載の順にマウスに対する毒力が弱くなる。方法はマウス (主として dd 系) の両足蹠に菌数を予じめ計測した菌液 0.1 ml を片側又は両側に接種し、経過を追つて血清の変化と局処の病変とを観察した。

(1) *M. balnei* など 2 ヶ月目位に足蹠の病変は最高に達するが漸次消退する。血清 rG の上昇は病変と共に始り、鎮静後も長くそのレベルを保つ。*M. marinum*, *M. platypocillus* ではその毒力に応じた病変と rG の上昇がある。

(2) 鼠蹠菌の場合は病変は 7~8 週より始まり、全身感染を起し、結局は 1 年前後に死亡するが、血清分画の変化は多彩で 3 ヶ月目より rG の増量の外、トランスフェリン、 β グリコプロテン、 rA の上昇があり、後にはハプトグロビン、 rM も上昇する。アルブミンは減量し、 α_2 マクログロビン、 α_1 リポプロテンの増量も見られる。又、元来、マウスでは rG が $7S r_1$ と $7S r_2$ に分れていると言う Fahoy の報告も確認された。人蹠菌の場合は、蹠菌が増殖するまでの期間が長く 6 ヶ月~1 年もかかることと一致し、血清蛋白の変化も鼠蹠の場合にくらべ著しくなり 6 ヶ月以上経て漸く rG と rM 殊に rG の上昇が見え始めるが、菌が接種局処で上昇した例ではこれが明瞭であつたと言う。併し、接種菌が局処で増殖したかどうかはつきりせぬものや、増殖しなかつた例でも rG の上昇例は必ずしも少くはなかつた。1 度上昇した rG は長くそのレベルを保つと考えられると言う。著者は特に rM について論及し、 rM の上昇と略平行して上昇はするが、局処の菌増殖との関係は rG とは逆を示し、増菌例では rG が上昇しているのに rM が微弱か又は全く発現しない例が多く、菌陰性群では rG の上昇と共に rM も増強する傾向が強かつたと言うのは注目してよい新知見であろう。これは増菌の際は rG の産生が多いが、感染が抑止されるとリンパ球が多くなることと結びつけられるのであろうと推測している。

いづれにしても、マウスに殆ど病原性のない蹠菌、病原性はあつても弱い抗酸菌と毒性が決定的に強い鼠蹠菌の三者を接種した場合のマウスにおける免疫学的態度と血漿分画の変化を通じて論じた文献はなく、著者によつて少くともその一部が解明されたと言えよう。

よつて学位授与に値するものと信ずる。