Osaka University Knowledge Archive

Title	結核菌菌体のショック誘起性多糖体に関する研究
Author(s)	新中, 徹
Citation	大阪大学, 1968, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29518
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【26】

氏名・(本籍)	新中　徹（にいなか　とおる）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 1391 号
学位授与の日付	昭和43年3月28日
学位授与の要件	医学研究科内科系 学位規則第5条第1項該当
学位論文名	**結核菌菌体のショック誘起性多糖体に関する研究**
論文審査委員	(主査) 教授 山村 雄一 (副査) 教授 堀 三津夫　教授 石上 重行

論文内容の要旨

〔目　　的〕

1923年 Zinser らが初めて結核菌菌体中に結核死菌感作動物に対してアナフィラキシー・ショックを誘発する物質が存在すると報告すると報告して以来，数多くの研究者により，その作用を誘発し得る物質の本態が追求されて来た。現在では恐らく結核菌菌体中の多糖体がその本態であろうとされている。しかし，これらの研究は蛋白質を含まない精製された多糖体について，そのショックとの関連を明らかにしたものでなく，従って蛋白分画にも生物学的活性があると言う報告もあり，未だ結論に至っていない。そこで著者は結核菌菌体より蛋白質を含有しない多糖体を分離精製して，そのショック誘起性作用を検討し，さらに化学的並びに免疫学的性状との関連を明らかにする目的で本研究を行なった。

〔方法並びに成績〕

(1) 多糖体の分離精製法：人型結核菌青山B株の加熱死菌をエタノール，エーテル，次いでクロロホルム，メタノール混合液で脱脂操作を行ない，その脱脂菌体を乳鉢で磨砕した。これを4％苛性ソーダで抽出し，この遠沈上清を氷酢酸で中和，その後充分透析を行なった。次いで同容の20％三塩化酢酸で除蛋白した後，遠沈してこの上清を透析，さらにエーテル処理により残存した三塩化酢酸を除いた。これを濃縮後，99.8％エタノール同容加えて遠沈により沈澱部分と上清部分に分けた。以後沈澱部分をＡＰ画分，上清部分をＡＳ画分と名づける。ＡＰ画分は 10 mg/ml, 1 mg/ml にても結核死菌感作モルモットにアナフィラキシー・ショックを惹起し得ないので除外した。一方ＡＳ画分は 1 mg/ml, 0.5mg/ml にて強いアナフィラキシー・ショックを認めた。従ってこのＡＳ画分を採り，透析後濃縮し凍結乾燥をした。Dowex 50 (H^+ type) を氷に懸濁してカラムを調製しＡＳ画分を添加して，水で溶出した。水溶出画分が充分に溶出されてから，さらに 0.2M Na_2HPO_4 で溶出させた。

この際水溶出画分を ASA 画分と名づけ，この ASA 画分について，さらに DEAE セルロースによるカラム・クロマトグラフィーを行なった。すなわち，水で溶出される画分と 0.2M Na H_2PO_4 で溶出する画分に分け，水溶出画分を $A\alpha$. 0.2M Na H_2PO_4 で溶出する画分を $A\beta$ と名づけた。この両画分について透析後凍結乾燥を行ない，結核死菌感作モルモットを用いて生物学的活性を検討したが両者共アナフィラキシー・ショック活性，皮膚アナフィラキシー活性ともに強い活性を示した。次いで $A\alpha$, $A\beta$ について Sephadex G-75 によるゲル沪過を行なったところ，それぞれ 2 峯の曲線を得たので $A\alpha_1$, $A\alpha_2$, $A\beta_1$, $A\beta_2$ と名づけ透析後凍結乾燥をして，これらの生物学的活性を検討した。すなわち感作モルモットにおける能働アナフィラキシー・ショック活性は $A\alpha_1$, $A\beta_1$, 共に 250 μg/ml で強い反応があった。そこで結核菌菌体より蛋白質を含有しない純多糖体を精製するという目的で $A\alpha_1$, $A\beta_1$ についてさらにエタノールによる沈澱法をくり返したところ $A\alpha_1$ は窒素0.1%以下を示したが，$A\beta_1$ はいまだ窒素 0.37 %を含んでいた。そこで $A\alpha_1$ についてさらにエタノール沈澱法 50-70 %，70%以上の 2 画分に分けてくり返し行なった結果，いずれも窒素を殆ど含まない多糖体を得ることが出来た。それぞれを $A\alpha_1$ 50-70, $A\alpha_1$ 70- と名づけた。

(2) 精製多糖体の構成成分：元素分析の結果，$A\alpha_1$ 50-70 は C：40.66 %，H：7.18 %，N：痕跡で $A\alpha_1$ 70- は C：41.66%，H：6.61%，N：痕跡であった。さらに糖の構成成分を試べるため，ガス・クロマトグラフィーによる分析を行なった。$A\alpha_1$ 50-70 では Arabinose, glucose 約 1 ： 1 と少量の Mannose を得，$A\alpha_1$ 70- では，Arabinose, galactose が 5 ： 1 の比で検出された。

(3) $A\alpha_1$ 50-70, $A\alpha_1$ 70- 両画分の免疫学的および生物学的活性：Ouclaterlony 法による寒天ゲル内沈降反応を行なった。家兎を結核死菌で感作して作った抗血清と $A\alpha_1$ 70- の間では一本の沈降線を認めたが $A\alpha_1$ 50-70 画分ではこの他さらに別の沈降線も認めた。又定量沈降反応では $A\alpha_1$ 70- は 31.2μg/ml で蛋白反応の peak を持つ曲線が得られた。生物学的活性に関しては $A\alpha_1$ 50-70, $A\alpha_1$ 70- 画分いずれも能働及び受働アナフィラキシー・ショック活性，皮膚アナフィラキシー活性，Prausnitz-Küstner 型反応を有していた。

(4) $A\alpha_1$ 50-70, $A\alpha_1$ 70- 画分の皮内反応：結核死菌感作モルモットをもちいた皮内反応では，$A\alpha_1$ 50-70, $A\alpha_1$ 70- 共に 4 — 5 時間で最大に達し，48 時間において殆ど消失する即時型皮内反応を認めた。対照として旧ツベルクリン液，TAP (Tuberculin Active Peptide) を用いて同様の皮内反応を行なったが24時間後において著明な発赤，硬結を示す遅延型の皮反応を認めた。すなわち精製多糖体では即時型の皮内反応を示すことを証明した。

〔総　　括〕

(1) 結核死菌感作モルモットに対するアナフィラキシー・ショック活性を有する多糖体を結核菌菌体より分離し，高度に精製したものを用いて生物学的活性を検討した。

(2) 最も精製された画分 $A\alpha_1$ 70- は窒素をほとんど含まず，D-Arabinose, および D-Galactose より構成されている多糖体で強いアナフィラキシー・ショック活性を有していた。

(3) Prausnitz-Küstner 型反応，皮膚能働並びに受働アナフィラキシー反応においても $A\alpha_1$ 70- 画分は強い活性を示した。

(4) 精製多糖体 $A\alpha_1$ 70- 画分は皮内注射によって結核死菌感作モルモットに即時型皮内反応を示

し，遅延型の皮内反応は認めなかった。

論文の審査結果の要旨

著者は結核死菌感作モルモットに対して免疫学的活性，特にアナフィラキシー・ショックを誘起する多糖体を結核菌菌体より分離精製し，本多糖体は arabinogalactan であることを同定した。本研究は従来結核菌のショック誘起物質は多糖体であろうとされていたことに確証を与えたもので，結核の病態生理に興味ある新知見を与えたものである。