The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	抗原分析によるMycobacterium tuberculosisとM. bovisおよびM. aviumの鑑別
Author(s)	新免, 靖久
Citation	大阪大学, 1978, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32375
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【19】

氏名・(本籍)	新免靖久（しんめん やすひさ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 4403 号
学位授与の日付	昭和53年10月3日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**抗原分析による *Mycobacterium tuberculosis* と *M. bovis* および *M. avium* の鑑別**
論文審査委員	(主査) 教授 松田 守弘 (副査) 教授 天野 恒久　教授 三輪谷俊夫

論文内容の要旨

〔目　的〕

非定型抗酸菌を含む抗酸菌の分類および同定は，なお世界的に検討が続けられている。*Mycobacterium tuberculosis*（結核菌，以下*M. tbc*と略す）の鑑別には，簡単な方法としてナイアシン・テストが主として用いられているが，本法の特異性は厳格なものとは言い難い。特に*M. tbc*と *M. bovis*（牛型ミコバクテリア）の鑑別は，なかなかに困難であり，血清学的にも，従来，結核菌に特異的な抗原の存在は，多くの研究者によって否定的であった。著者は，菌体破壊抽出液を用いたゲル内沈降反応による抗原分析によって，*M. tbc* $H_{37}Ra$および*M. tbc* $H_{37}Rv$株には，*M. bovis* BCG 株には認められない一抗原（η：イータと命名）が，不安定ながら存在することを初めて見出した。そこで，著者はまず第一に，このη抗原の安定な検定系を検索し，その上で*M. tbc*, *M. bovis*および*M. avium*の種々の株について，この抗原の分布の特異性を確かめ，*M. tbc*と*M. bovis*の免疫化学的同定法を確立しようとした。

〔方法および結果〕

1）安定な抗原液の調製法および再現性のあるゲル内沈降反応条件の検討：福井らの方法により振盪培養した$H_{37}Ra$株の菌体をTris-Cl緩衝液に浮遊させ，超音波破壊後，$10^5 \times g$，1時間の超遠沈上清のメンプランフィルター（0.2μ）沪液を，少量ずつViskingチューブに分注し，濃度，pH，添加物（金属キレート剤，還元剤）および塩の種類について，種々組合わせた緩衝液にそれぞれ透析し，透析標品のη抗原活性をゲル内沈降反応によって調べた。

その結果，菌体破壊液中のη抗原活性は，2mM EDTAを含む0.1M燐酸緩衝液（pH 7.6～7.8）

で最も安定であった。又この緩衝液を用いて調製した粗抗原液のη抗原活性は0～4℃で一週間以上保存できた。

ゲル内沈降反応は，上記燐酸緩衝液に，0.05M NaCl，0.05%Na Azideを添加した0.8%アガローズ中で，4℃において行うことによって再現性を得ることができた。

2）*M. bovis* BCG株菌体抽出液には，η抗原が検出されないことの確認：BCG菌体破壊抽出液を用いて，ウサギ抗-H_{37}Ra抗原血清中の抗η抗体の吸収の有無を調べたところ，抗η抗体は全く吸収されなかった。また，BCG菌体とH_{37}Ra菌体を混合して破壊して得た抽出液におけるη抗原の活性を調べた結果，その活性の低下又は消失は認められなかった。

以上のことから，ＢＣＧ菌体抽出液中には，吸収試験によって初めて見出されるような不溶性のη抗原活性の存在，さらにη抗原を失活させる因子が存在する可能性が否定された。

3）η抗原の精製および安定な検出系の確立

η抗原の精製方法としては，硫安分画およびゲル沪過法のみが有効で，各種イオン交換カラムクロマトグラフィー，電気泳動法その他試みた全ての方法では，η抗原が回収不能か，または純度が上らなかった。従って菌体抽出液を，平衡透析法による厳密な条件下での硫安分画を繰返し，次いでSephadex G-200を用いたゲル沪過を２回行うことにより，少なくとも，３ケ月は安定な活性を保持する精製η抗原標品（精製度約8,000倍）を得ることができた。この精製η抗原標品とそのウサギ抗血清を用いることによって，η抗原一抗η抗体沈降線をreferenceとする各種菌株の粗抽出液におけるη抗原の分布を調べるための，再現性のある検定系を組立てることができた。

4）η抗原の分布の特異性に関する検討

M. tbc（微研保存株，患者分離株），*M. bovis*（微研保存株，自然分離株２株）および*M. avium*（微研保存株）について，η抗原の存在の有無を調べ，さらにその特異性をナイアシンテストのそれと比較した。

その結果，η抗原は*M. tbc*の全ての株に認められたが，*M. bovis*，*M. avium*のいずれの株にも認められなかった。一方ナイアシンテストは全ての*M. tbc*および*M. bovis*の一部の株に陽性で，*M. avium*は全て陰性であった。

〔総　　括〕

*M. tbc*に見出され，*M. bovis*に検出されない特異的な抗原（η）の存在を，はじめて見出した。またこのη抗原を精製し，その抗血清を調製して，ミコバクテリア菌体粗抽出液中のη抗原の検出，同定について再現性のよい検定系を確立した。この検定系を用いて，種々の *M. tbc*，*M. bovis*，*M. avium*の株の抗原解析を行った結果，η抗原の分布は従来用いられているナイアシンテストよりも*M. tbc*に特異的であった。この研究によって確立したη抗原検出系は，*M. tbc*同定法として極めて有力な方法であると考えられる。

論文の審査結果の要旨

Mycobacterium tuberculosis(*M. tbc*)と 特に*M. bovis*との鑑別は困難であり，血清学的にも*M. tbc*に特異的な抗原の存在は従来あいまいでむしろ否定されてきた。本研究では，至適条件の厳密な検討の結果，*M. tbc*に見出され，*M. bovis*，*M. avium*には検出されない特異な抗原（ηと命名）の存在をはじめて見出し，この抗原を精製し，その抗血清を用いて現行のナイアシンテストよりも，*M. tbc*に一層厳格な特異性を示すこの抗原の再現性のある検定系を確立した。

この系は，患者（ヒト）由来のマイコバクテリアの鑑別同定に極めて有力な方法を提供するものであり，本論文は学位を授与するに十分値する。