梅毒皮内反応に関する研究

日本医科大学泌尿器科教室 (指導 北川漢教授)

植 松 文 康

Humiyasu Uematu

(本論文要旨は第 50 回, 第 51 回, 第 53 回日本皮膚科学会総会にし演説した)

第 I 編 臨 床 的 研 究

緒 言

梅毒の有無を検査する方法として現在一般に行われているものにワッセルマン反応, 梅毒沈降反応, 井出反応等がある。之に用いる抗原は何れも梅毒病原体たるスピロヘータ・パリダとは全く縁の無い人工的抗原であり, 牛心酒精浸出液にコレステリンを添加したものである。1907 年 Pirquet がツベルクリン皮膚反応による結核性疾患の診断を発表してより同一の理由に基いて梅毒皮内反応を試みる者が多数出現した。即ち 1908 年 Neisser²⁾ 次で Jadasshon¹⁾ その後多数の研究発表がある。その皮内反応抗原の材料は種々であり, スピロヘータ・パリダを多量に含有せる組織の浸出液, 或いは病原菌の純培養より製する乳剤又はその濾液を以てするもの等である。即ち Tedeschi (1908) は初期硬結より, 野口氏 (1911)⁷⁾ はスピロヘータ・パリダの純培養より作製した「ルエチン」を, Fischer-Klausner, (1913)⁵⁾ Müller u. Stein (1913)⁶⁾ は先天梅毒患者の内臓, 殊に肺, 肝, 淋巴腺から, Müller u. Brandt (1913)⁸⁾ は実験的家兎梅毒辜丸等種々の材料より浸出液を作製して皮内反応を試みた。その浸出法は加熱に因る抗原性低下の理由から悉くが低温殺菌法を用い, 浸出基液は生理的食塩水或いはグリセリンを以てしている。その皮内反応の成績に就いてみるに, 殆んどの先人は第 3 期及び先天梅毒には 90%~100% の陽性率を示したと報告した。然し乍らこの皮内反応の発赤, 潮紅を来たす物質が如何なるものであるか, 又そのよつて起る機序に就いての研究は殆んどなされていない。唯中川氏 (大正 9 年)¹⁷⁾ が野口氏ルエチンと自己の人辜丸ゴム腫より作製せる抗原とを注射部位皮膚の病理組織学的見地より略々過敏反応ではなからうかと報告しているに過ぎない。私は実験的家兎梅毒辜丸腫より, 蒸溜水を基液とし, 非加熱的に処置する

為ペニシリンを加えて浸出し, その浸出液を以て梅毒患者に皮内反応を試み, 先天梅毒に対し略々 100% 近い特異的発赤を来たす事実を確認し, この発赤を来たす物質が如何なるものであるか, 此の物質の熱に対する影響, 又この反応の起る機序等に就き実験的に追求したので報告する。

第一章 抗原の調製法と実験成績

1. 抗原調製法

(1) 使用材料: 当教室保存の金沢医大谷教授より譲を受けた家兎梅毒株にて約 20 代以上経過せるものを 2 kg 内外の白色雄性在来種家兎 10 頭内外の辜丸に接種し, 約 25 日より 30 日後著しき発赤腫張を伴える辜丸を無菌的に摘出し, その結節形成著しき硬結浸潤組織を選定し実験に供した。尙スピロヘータ・パリダは暗視野法を用いその存在を確実にしてから用いた。

(2) 製法: 家兎梅毒辜丸腫を無菌的に摘出し周囲の血液を十分に蒸溜水にて水洗し硬結浸潤著明な組織のみをとり正確に秤量し鉢にて細片に刻み之を滅菌乳鉢に取り乳棒にて之を磨滅し殆んど泥状になるまで繰り返えし, 先人の記載に準拠し辜丸腫 1 に対し 4 の割合に滅菌蒸溜水を加えた。又殺菌消毒法として加熱をさけ水溶性ペニシリンを混入し 14 日間毎日振盪しつつ室温にて浸出した。浸出液は東洋濾紙 No. 6 にて数回濾過し更に「ベルケヘルド」V にて濾過し, その濾液に 0.5% の割合に石炭酸, 0.85% の割合に食塩を加えた。雑菌の混入していない事を培養法によつて確めた後冷蔵庫に保存し約 2 ヶ月以内に使用した。

2. 実験方法と被検者

1 cc のツベルクリン注射器に 1/4 mm の注射針を付け, 之に充分振盪した抗原を吸引し, 前膊伸側部皮内に正確に注射した。抗原の注射量は 0.1 cc。注射施

行後 48 時間はなるべく飲酒及び入浴を禁じ、注射局所は摩擦しない様注意を与えた。対照として 0.5% 石炭酸加生理的食塩水 0.1 を同様皮内注射した。反応の測定は注射後 24 時間及び 48 時間の 2 回に亘って行い、48 時間値を以て反応を決定した。前膊に平行の方向を縦径とし、之と直角をなす方向を横径として測定した。反応の判定は特異的発赤を主とし、浸潤の大いさをも測定した。判定法は発赤 1 cm 以上のものを (+), 1 cm 以下 0.4 cm 以上のもの及び 1 cm 以上に及ぶ潮紅でもその発赤程度著しく弱く測定に困難せるものを (±) と判定し、0.4 mm 以下を (-) とした。尙水疱、潰瘍形成に注意し又後日色素沈着、注射後の全身副作用に就いては被検者全例に就いて実施する事は出来なかつたが 2, 3 を除いて殆んど見るべきものはなかつた。検査材料は日本医科大学第一医院外来及び山形県公立酒田病院外来患者に就いて行つた。尙対称として現症及び既往歴に梅毒を否定しワッセルマン反応、村田反応共に陰性なる者を選定した。

3. 実験成績

成績は第 1 表に示す通りである。顕症梅毒中第 2 期は丘疹性梅毒疹患者であり、第 3 期は総てゴム腫であ

第 1 表

		例数	陰性	疑陽性	陽性	陽性率
顕症梅毒	第 1 期	10	7	1	2	約 20%
	第 2 期	5	4	0	1	
	第 3 期	3	0	2	1	
潜梅毒	早期	44	29	6	9	約 20%
	後期	19	6	3	10	約 50%
先天梅毒		21	2	1	18	約 90%
計		102	48	13	41	約 41%
(対照) 非梅毒		31	24	5	2	約 6%

つた。潜伏梅毒は顕症梅毒後治療の如何を問わず 10 年未満のものを早期とし、それ以後のものを後期とした。之等は総てワッセルマン反応、村田反応共に陽性である。第 1 表で見られる様に顕症梅毒は検査材料甚だ乏しく多数例に就いて検討する事は出来なかつたが約 20% の陽性率であり、その内容は第 3 期約 30%、第 2 期約 20%、第 1 期約 20% である。第 3 期梅毒に於ては高く而も全く陰性に反応したものはなかつた。潜伏梅毒に於ては早期約 20%、後期約 50% となつており、先天梅毒に於ては約 90% となつている。即ち梅毒感染後早期は非常な低率を示し、梅毒感染後

年月の経過と共に陽性率は高くなつてゐる。殊に先天梅毒に於ては著明な高率を示した。非梅毒者に於ては 31 例中 2 例が陽性であつた。即ち非特異的陽性は約 6% であり非常な低率であつた。対照として総ての皮内反応と平行して 0.5% 石炭酸加生理的食塩水 0.2 cc 宛皮内注射を行つたが悉く陰性に終つた。

4. 小括

梅毒皮内反応に用いられた抗原の種類は種々雑多であり、梅毒初期硬結の浸出液、スピロヘータ・パリダの純培養による菌体エキスを、先天梅毒患者の内臓殊に白色肺炎の肺、肝、淋巴腺、又は人体梅毒丸腫、実験的家兎梅毒丸腫、淋巴腺腫等の浸出液である。唯野口氏⁷⁾は純培養に成功したと報告し之より作製したスピロヘータ菌抗原を以て皮内反応を行つたがその後の追試者⁸⁾によつて培養液成分の混入による非特異性反応強く成績も不良である事が明かにされた。私は実験的家兎梅毒丸腫を材料として用いた。文献に見る抗原作製法は大同小異何れも浸出基液は 0.5% 石炭酸加生理的食塩水又はグリセリンである。又 Brandt は石炭酸の代りにホルマリンの添加によつて抗原性の長期間持続を企図した。本学丸山教授¹²⁾並びにその門下柳原氏¹¹⁾及び野村氏¹⁰⁾等の淋菌の血清学的研究並に軟性下疳の皮内反応研究によれば、生理的食塩水による浸出法よりも蒸溜水による浸出法の方がより抗原性を高めるといふ実験成績を参照し梅毒皮内反応に於ても小実験 (第 2 表) の結果蒸溜水浸出液による抗原が食塩水浸出液に依る抗原よりも反応強度である事を確め得た。その結果浸出基液はすべて蒸溜水を用いた。注射量は先人は多くは 0.2 cc を皮内注射し、中でも中川氏¹³⁾に至つては 0.3~0.5 cc の大量を用いているが私の抗原は組織と浸出液との比率は先人の記載に準拠したにも拘らず抗原性強く 0.1 cc を適当と認めた。発赤は 24 時間後に於ては非特異性潮紅を来す場合が屢々見られた。若し 24 時間成績陰性の場合には 48 時間後には痕跡もなく消失していた。又後天梅毒患者に於ける発赤並に非梅毒患者に於ける非特異性発赤に於ては 24 時間値よりも 48 時間値は何れも小であつた。然し先天梅毒に於ては 24 時間値よりも 48 時間値に於て増大する傾向が認められ、且つ後天梅毒に比し発赤の程度遙かに高度であり、而も数日間消褪せぬものも屢々見られた。この高度の反応は先天梅毒に特有と推定された。反応成績を見るに先天梅毒 18 例の発赤測定値の平均は約 4.5 強であり、後天梅毒 19 例の発赤測定値の平均は約 2.1 であつた。反応陽性に現われた

第2表

No	氏 名	年令		ワ氏 反応	村田 反応	食塩水浸出抗原	蒸溜水浸出抗原
1	金 ○	27	先天梅毒	++	++	4.5×3.7	8.8×7
2	滋 ○	15	"	+++	+++	6.3×5.1	8.5×5.6
3	野 ○	23	"	+	+	6.5×3	6.8×4.1
4	西 ○	21	硬性下疳	—	—	(±)0.3×0.5	(±)1.0×1.0
5	松 ○	46	後期梅毒	+	+	1.1×0.6	1.5×2.3
6	益 ○	47	"	+	++	2.1×2.5	3×6
7	成 ○	63	"	+	+	1.1×0.8	1.6×1.4
8	竹 ○	35	"	++	++	1×1.3	3×2
9	付 ○	33	"	+++	+++	3×2.3	3.8×2.2

後天梅毒患者のみの平均値は先天梅毒発赤平均値に遙かに及ばない。又顕症梅毒患者の陽性者のみの測定値を示せば第3表の如くである。先人の反応成績に就いてみるに、Klausner (1912)⁹⁾、中野氏 (1913)¹⁾、Müller-Brandt (1929)⁸⁾ 等は第3期梅毒並びに先天梅毒患者の反応は 90%~100% の陽性率を示したと発表しているが、私の成績も先天梅毒患者に於ては後天梅毒患者に比し非常に高度の陽性率を示し 90% であつた。且つ前述した如く反応程度高度且つ長時間持続する事が特有と推定された。次に先天梅毒患者の実験成績の内、之を血清反応 (村田反応、ワッセルマン反

第3表

No	氏 名	年令		ワ氏 反応	村田 反応	
1	長 ○	29	第1期	—	—	0.5×0.5
2	西 ○	21	第1期	—	—	1×1
3	吉 ○	21	第2期	+++	+++	4.3×3.8
4	早 ○	45	第3期	+++	+++	1.0×0.5

応) 陽性なるものと、治療により血清反応陰性化せるものとに別けてみると成績は第4表の如くである。即ち現症、既往症のあるもの、又血清反応陽性なるもの

第4表

先天梅毒患者				
(A) 血清反応陽性なるもの				
症 状	例 数	陰 性	疑陽性	陽 性
現症、既往症のあるもの	10	0	0	10
無 き も の	4	0	0	4
(B) 治療により血清反応陰性化せるもの				
既往症のあるもの	5	0	1	4
無 き も の	2	2	0	0

は全部皮内反応陽性を示し、血清反応陰性化し血清反応以外先天梅毒症状の現症既往症なきもの2例に於てのみ陰性を示した。この2例は果して先天梅毒であつたか否かは臨床検査上決定する事は出来なかつた。又血清反応は治療により陰性化した但既往歴に於て先天梅毒症状の認められた5例に於ては4例が陽性の成績を示し1例が疑陽性であつた。即ち当抗原によ

る皮内反応は血清反応より更におくれて陰性化するものと推定される。然し症例過少のため結論出来ない。

副作用としては疼痛を訴えたもの数例、潰瘍、水疱を認めたもの1例あつたが淋巴腺腫脹等は1例も認めなかつた。かく副作用は殆ど意に介する必要はなかつた。以上梅毒患者 102 例に対する皮内反応の総括成績は 41% 陽性率であり梅毒全部に対する特異的反應とは考えられない。然し当抗原は先天梅毒に特異的の高度の発赤を来しその陽性率も 90% を算え、先天梅毒判定の特異性を有する事を確認した。

第二章 非加熱抗原と加熱抗原との比較

1. 抗原調製方法

(1) 材料：実験的家兎梅毒瘰癧腫、第一章1の(1)と同じ。

(2) 製法：非加熱抗原、第一章1の(2)と同じ。加熱抗原、第一章1の(2)に於て蒸溜水を加え直ちに重湯煎上 100 度 120 分間加熱し之を 14 日間毎日振盪しつゝ室温にて浸出した。以後の処置は非加熱抗原と同様である。

2. 実験方法並に実験成績

実験方法は同一患者に同時に左右前膊内側に兩種抗原 0.1cc を皮内に注射し 48 時間後に発赤浸潤を計測した。

実験成績：第5表の通りである。即ち先天梅毒20例に於て非加熱抗原はその特異的発赤を陽性と認めたものは 17 例約 85%，加熱抗原に於ては 10 例 50% に止つた。先天梅毒 20 例の内容は第6表に示す通りである。非加熱抗原の発赤が加熱抗原の発赤より劣つてゐる例は1例も認めなかつた。唯1例に於てのみ 10×4cm の同じ値を示したにすぎない。大部分は非加熱抗原の発赤の計測値の半分値に達していない。極端な例では第4、第13、第18例の非加熱抗原陽性に対して加熱抗原陰性の成績であつた。かく発赤に於ては

第5表

	例数	非加熱抗原			加熱抗原		
		陰性	疑陽性	陽性	陰性	疑陽性	陽性
顕症梅毒	第1期	1	0	0	1	0	1
	第2期	1	1	0	0	1	0
	第3期	1	0	0	1	0	1
潜梅毒	早期	29	17	5	7	25	3
伏毒	後期	11	4	2	5	9	1
先天梅毒		20	2	1	17	7	3
計		63	24	8	31	43	8
非梅毒		16	15	1	0	16	0

両者の間に著しい相違を認めるが浸潤に就いて観察するに第6表に見るが如く加熱抗原に於て多少の減弱は認めるが発赤の如き著明な相違は之を認める事が出来なかつた事は注目すべき所見と思われる。

3. 小括

抗原作製にあつて加熱か非加熱か、何れがその抗原性を低下せしめないかはその抗原作製の材料によるものと推定される。又その加熱の温度、時間にも問題があろう。丸山教授¹²⁾、藤沢氏¹⁸⁾は淋疾補体結合反応に関する研究中、加熱淋菌蒸溜水と加熱食塩水濾液との抗原性の比較に就いてみるに、鋭敏度に於て遙かに前者が優つており仮に前者の陽性率を100%とすれば後者は約70.7%陽性を示しており、抗補体価に於て

第6表

No.	氏名	年令	既往症並に現症	治療	ワ氏 反応	村田 反応	(A) 無熱抗原			(B) 加熱抗原		
							発赤	浸潤	判定	発赤	浸潤	判定
1	加○	14	ハッチンソン歯	Salv 26回	—	+	4×3	0.6×0.5	+	2.7×2.4	0.5×0.5	+
2	佐○	23	ハッチンソン歯	治療せず	+	+	6×3	0.8×0.7	+	3.7×2.0	0.6×0.5	±
3	川○	18	ハッチンソン歯	Salv 45回	—	—	(±) 5.5×4	0.6×0.6	±	(±) 2.5×2.2	(±) 0.3×0.3	±
4	戸○	9M	鼻炎	治療せず	卅	卅	5.4×3.5	0.8×0.7	+	—	0.7×0.6	—
5	鈴○	21	角膜実質炎ハッチンソン歯	Salv 110回	卅	卅	2.7×3.4	1×0.7	+	1.6×1.4	0.5×0.5	+
6	阿○	17		Salv 3回	±	+	(+) 1×2.5	0.8×0.8	+	2×1.9	0.5×0.5	+
7	阿○	11	角膜実質炎ハッチンソン歯	治療せず	卅	卅	(+) 3.2×3.2	0.7×0.8	+	(+) 3×2.2	0.7×0.4	+
8	仲○	3	両親共WaR(+)のため採血発見WaR(+)MtR(+)	完全治療を受けた	—	—	—	0.5×0.4	—	—	0.4×0.3	—
9	斉○	17	WaR(+)MtR(+)	Salv 47回	—	—	—	(±) 0.4×0.4	—	—	—	—
10	斉○	19	ハッチンソン歯難聴 WaR(+)MtR(+)	Salv 501回 P 240万	—	—	5.2×3.2	0.8×0.8	+	4×2.8	0.7×0.7	+
11	佐○	6	角膜実質炎	P 15万宛 12回	+	+	5×4	1×1	+	—	0.7×0.7	—
12	遠○	2			卅	卅	3.3×3	0.4×0.4	+	—	—	—
13	佐○	3M	パロー氏仮性麻痺		卅	卅	10×4	0.8×0.8	+	10×4	0.5×0.5	+
14	佐々○	16	角膜実質炎	Salv 15回	—	—	5×3.4	1.1×1	+	4.7×2.8	—	+
15	長谷○	11	難聴 WaR(+)	3ヶ年治療	—	—	5×4	0.8×0.8	+	2.2×1.5	0.7×0.7	+
16	千○	33	ハッチンソン歯		±	+	(+) 7.2×3.8	0.7×0.7	+	(±) 4×2.7	0.6×0.5	±
17	高○	10	角膜実質炎	治療せず	卅	卅	3.8×3	0.6×0.7	+	4×3	0.7×0.6	+
18	森○	6	WaR(+)MtR(+)	ミオサルバルサン 189回	—	—	4×3	0.7×0.6	+	—	—	—
19	島○	21	角膜実質炎	マハルゾール 85回	卅	卅	4.4×2.8	0.6×0.5	+	—	0.6×0.6	—
20	金○	27	角膜実質炎	Salv 21回	卅	卅	(+) 8.5×6.7	6.2×5	+	5.9×5	3×2.1	+

注 Salv…サルバルサン注 P…ペニシリン WaR…ワッセルマン反応 MtR…村田反応 (±)発赤痕跡にて陽性と言ひ兼ねるもの (卅)強度の発赤にして浮腫を伴へるもの

も約 1.5 倍を示していたと報告し、加熱蒸溜水浸出液抗原が最も優れている事を立証した。又野村氏¹⁰⁾は軟性下疳抗原作製にあたって、100°C 120 分加熱抗原が最優秀のものであつて、それ以上の加熱は抗原性を低下せしめると言っている。私の抗原の材料は丸山教授、野村氏等の如く菌体ではなく臓器成分が菌体より遙かに多くの材料となつている関係上 100°C 120 分加熱が却つて非加熱抗原より抗原性が低下している事が実証された。先人の梅毒皮内反応に就いて見ても悉くが非加熱、即ち低温殺菌法にて処理しその抗原性の低下を防いでいる。この点私の小実験と一致している。即ち臓器浸出液抗原は加熱によりその抗原性を低下せしめるものと推定される。而も加熱による抗原性低下は発赤を惹起せしめる物質に於て著明であり浸潤を起す物質に対しては比較的軽度である事を知見した。

第三章 梅毒辜丸腫浸出液より抽出した蛋白質劃分と多糖類劃分との抗原性に就いて

1. 前書き

実験的家兎梅毒辜丸腫より浸出した物質を皮内注射する事により先天梅毒患者に於て特異的発赤を来す事を確認した。その特異的発赤を来す本態が如何なる物質であるかを追求した論文は文献上見当たらない。私はこの本態の追求として浸出物質より蛋白質劃分と多糖類劃分とを抽出し皮内反応の反応因子が果して何れの劃分に存するかを明かにしようと試みた。抽出方法としては本学丸山教授の方法に準拠して行つた。

2. 抗原調製法

(1) 蛋白質劃分の製法

家兎梅毒辜丸腫を秤量 (約 35 瓦) し無菌的に細片、磨滅、辜丸腫の重量 1 に対して 10 の割合に蒸溜水を加え、殺菌の目的にペニシリンを混入し 14 日間毎日振盪室温にて浸出した。(約 350 cc)

浸出後東洋濾紙 No.6 にて之を濾過、更に「ベルケヘルド」V にて濾過、その濾液に 25% ズルフォサルチル酸を沈澱の出なくなるまで滴下した。沈澱は不要な大量のズルフォサルチル酸により再溶解するを以て注意深く之を滴下しなければならない。之を 24 時間冷蔵庫に保存し遠心分離を行い上清と沈澱とに分ける。上清を捨て沈澱物を減圧乾燥、アセトン、エーテルにて洗滌し、計量 (約 0.18 瓦)、4% 苛性ソーダ溶液を滴下して溶解し、4% 塩酸を滴下 pH を 7.0 に修正し、之に蒸溜水を使用材料辜丸腫と蒸溜水との比が 1:4 の割合になる様に加えた。更に 0.5% の割合に

石炭酸、0.85% の割合に食塩を加えて抗原蛋白質劃分とした。本物質はアセトン、エーテルに溶解せず水に対しては難溶性を示した。

(2) 多糖類劃分の製法

蛋白質劃分同様梅毒家兎辜丸腫 (約 50 瓦) を細片、乳状に磨滅、辜丸腫対蒸溜水の比を 1:10 の割合に加え、直ちに重湯煎上で 100°C 120 分間加熱し、冷却後蒸発した不足量だけ蒸溜水を加え、14 日間毎日振盪室温にて浸出した。浸出後東洋濾紙 No.6 にて濾過、之を数回同一濾紙にて繰り返し、更に「ベルケヘルド」V にて濾過しこの濾液に沈澱の出なくなるまで 25% トリクロール醋酸を滴下し、之を遠心分離して上清と沈澱とに分ける。その上清を約 1/3 量にまで減圧濃縮し 3 倍量の冷無水アルコールを加え氷室に 2 日間放置した後遠心分離を行い、上清と沈澱物とに分ける。その沈澱物をアセトン、エーテルにて洗滌、減圧乾燥、計量 (約 0.02 瓦) し最初計量した辜丸腫 1 に対し 4 となる割合に蒸溜水を加え pH 7.0 と修正する。更に 0.5% 石炭酸、0.85% 食塩水の割合になる様に石炭酸及び食塩を加え抗原多糖類劃分とした。この物質はエーテル、アセトンに溶解せず水に容易に溶解する。蛋白質劃分、多糖類劃分の定性反応は第 7 表に示す如く蛋白質劃分に於ては Molisch 反応は、(±)、多糖類劃分に於ては Molisch 反応のみ (++) を示し他の蛋白質の色彩及至沈澱反応は陰性であつた。

3. 実験方法

蛋白質劃分は 0.1 cc 乃至 0.2 cc、多糖類劃分は 0.2 cc を皮内注射した。観察は 24 時間及び 48 時間後とし判定は 48 時間の成績を採つた。

4. 実験成績

1) 蛋白質劃分：第 8 表に示す通りである。先天梅毒に対して陽性なるもの 15 例中 11 例約 73% となつており、浸出液抗原の 90% に比べれば可成り低下しているが、他の時期の梅毒に比すれば相当高率を

第 7 表

		多糖類劃分	蛋白質劃分
蛋白質 反 応	Ninhydrin	—	+
	Biuret	—	+
	Millon	—	+
	Xanthoprotein	—	—
	Sulfosalicylsäure	—	+
糖 反 応	Nylander	—	—
	Molischäure	++	±

第 8 表

	例数	陰性	疑陽性	陽性	%
先 天 梅 毒	15	0	4	11	約73%
潜伏梅毒 早期	11	8	0	3	約26%
潜伏梅毒 後期	16	13	1	2	約12%
非 梅 毒	31	29	1	1	約 3%

示している。尙疑陽性は4例で陰性は1例もなかった。

2) 多糖類劃分：第9表に示す通りである。先天梅毒14例に対して疑陽性2例を見るに止り陽性0%であつた。

第 9 表

	例数	陰性	疑陽性	陽性	%
先 天 梅 毒	14	12	2	0	0%
潜伏梅毒	14	14	0	0	0%
第 4 期梅毒	6	6	0	0	0%
非 梅 毒	20	20	0	0	0%

5. 蛋白質劃分に対する加熱の影響

梅毒瘰癧浸出液が加熱によつて著しくその抗原性を減弱する事は前章で述べたが、蛋白質劃分にも同じ事実がないかどうかを追求してみた。先づ蛋白質劃分の製法に於て、14日間浸出する前に100°C 120分加熱をし、その後の処置は同様にし、非加熱蛋白質劃分と皮内反応を同一患者に試みてみた。その成績は第10表

第 11 表

No.	氏名	年令	ワ氏 反応	村田 反応	梅毒瘰癧 浸出液	蛋白質 劃分	多糖類 劃分
1	金○	27	卅	卅	7.5×4.8	5.2×4.1	(±)0.6×0.4
2	野○	23	—	—	7.2×3.5	1.6×1.0	—
3	滋○	15	卅	卅	8.8×5.6	4.2×2.5	(±)2×1.4
4	三○	6	+	+	2.0×1.2	1.4×1.3	—
5	堀○	2	卅	卅	2.2×1.5	1.3×1.0	—
6	有○	21	—	—	2.3×1.4	1.4×1.1	—
7	太○	18	+	+	3.0×2.4	2.0×3.0	—
8	加○	16	+	卅	7.5×4.0	—	—
9	齊○	17	—	—	2.1×3.0	—	—
10	小○	21	+	+	5.4×2.4	0.3×0.2	—
11	土○	4	—	—	1.0×0.5	—	—
12	佐○	23	+	+	2.0×2.3	0.5×0.6	—
13	鈴○	25	+	+	1.4×1.4	2.3×1.3	—
14	小○	21	+	+	6.1×4.9	—	—

に示す如くである。

即ち先天梅毒14例中非加熱に於ては11例約70%が陽性を示すのに反し加熱抗原では14例中6例約40%であつた。この6例の両者陽性例の中加熱抗原0.2ccと非加熱抗原0.1ccとを比較するに略々同等の数字を示し、非加熱抗原0.2ccは更に大きな発赤を示していた。これによつても加熱する事が梅毒瘰癧浸出液同様蛋白質劃分の抗原性をも低下せしめる事を認めた。

6. 梅毒瘰癧浸出液、同蛋白質劃分、同多糖類劃分三者の皮内反応比較

第 10 表

No.	氏名	年令	反応 ワ氏	反応 村田	加 熱 0.2 cc	非 加 熱 0.1 cc	非 加 熱 0.2 cc
1	小 ○	22	卅	—	8×7	7×6	12×7
2	石 ○	19	—	—	2×2	1.3×1	8×3
3	加 ○	18	—	+	(±)	6×4.5	10×6
4	白 ○	15	卅	卅	(±)8.5×4.5	6×3	9×4.5
5	佐 ○	1	—	—	(±)4×5	2.1×1.8	4.5×4
6	佐 ○	1	卅	卅	(±)4×5	6.1×5	8×5
7	佐 ○	20	+	+	—	(±)4×3	(±)9×5
8	阿 ○	—	±	+	5.5×5	5×4.5	8×6
9	早 ○	19	—	+	—	(±)	(±)8×6
10	小 ○	19	卅	卅	1.5×1	1.3×1.4	4×4.2
11	齊 ○	21	—	—	3×2	2×1.5	3×1
12	山 ○	15	+	+	7.9×6.3	8×5.5	9.7×7
13	丹 ○	9	卅	卅	(±)5×4	(±)6.4×4	(±)7.4×4.3
14	水 ○	20	卅	卅	—	4.3×3.8	7.2×5

注 (±)は潮紅薄く測定は出来たが判然たる紅斑と認め兼ねた事を意味す。

以上前述した通り三種の抗原を作製、同時に同一患者 14 例に皮内注射を試み比較検討した。これは三者間の相異を一層明瞭化するを目的とした。梅毒辜丸腫浸出液、蛋白質劃分は、0.1 cc、多糖類劃分は 0.2 cc を両側の前膊に同時に注射した。その成績は第 11 表に示す通り梅毒辜丸腫浸出液抗原は 100% 陽性を示し、蛋白質劃分は、71%，多糖類劃分は 0% の値を示した。

総 括

実験的家兎梅毒辜丸腫を材料として最初に皮内反応を試みたのは Müller-Brandt⁸⁾ である。この浸出法を見るに基液に食塩水を用い 0.5% 石炭酸を加え非加熱的に処理している。又他の方法も食塩水又はグリセリンを用い非加熱的に或いは低温殺菌法を用いて浸出を行つている。野村氏¹⁰⁾は軟性下疳の皮内反応の研究で、食塩水浸出抗原は蒸溜水浸出抗原よりその抗原性が劣ると報告している。私は之に準拠し食塩水浸出法にかえて蒸溜水浸出法を採用した。そして殺菌の目的にはペニシリンを加えた事も先人のそれと異つた方法である。以上の方法により梅毒辜丸腫浸出液を作り梅毒患者に皮内反応を試み、後期梅毒殊に先天梅毒に 100% 近い特異的発赤を来す事実を確認した。Klausner,⁹⁾ Fischer,³⁾ Müller-Stein,⁶⁾ 中野氏⁴⁾等は第 3 期梅毒、先天梅毒に発赤腫脹は著しく 90%~100% の陽性を示したと報告している。私の成績も同様の結果を示した。猶他の梅毒に対しては非常な低率であり非梅毒者に対しては約 6% の陽性を見るに過ぎなかつた。以上の成績よりこの浸出液による皮内反応は各期梅毒に対しては診断的価値を有しないが先天梅毒患者に対しては特異的反應であると考え。次に文献上加熱浸出による抗原作製法は見当らなかつたが、100°C 120 分加熱抗原は非加熱抗原に比較して著しくその抗原性を減弱する事を知見した。即ち抗原作製上辜丸乳状物を 100°C 120 分加熱浸出したものと非加熱的に処置したものとに就いて比較して見た所、その陽性率はほぼ半減した。次に先天梅毒に対して特異な発赤を示すこの家兎梅毒辜丸腫浸出液は如何なる物質が主体となつて出現するのかを追求すべく私はこの梅毒辜丸腫浸出液より蛋白質劃分と多糖類劃分とを本学丸山教授等の方法により抽出し、この三者に就いて先天梅毒患者に皮内反応を試みた。先づ蛋白質劃分に於ては先天梅毒に略々特異的な発赤を示したが、その発赤の出現は辜丸腫浸出液に比較すると相当低下している。尙発赤程度に就いて観察すると、蛋白

質劃分 0.2 cc 注射は辜丸腫浸出液 0.1 cc 注射に略々相当し、発赤の消長は蛋白質劃分の方が速かに消失する事を認めた。即ち蛋白質劃分に於ては 24 時間値より 48 時間値の方が発赤は不明瞭になる傾向があるが、之に反し辜丸腫浸出液に於ては却つて 48 時間値の方が明瞭であつた。又加熱は、辜丸腫浸出液と同様蛋白質劃分に於てもその抗原性を低下せしめた。多糖類劃分に於ては殆ど 0% の陽性率を示し疑陽性即ち 24 時間に測定可能なるも 48 時間に於ては測定不可能なるもの僅かに 2 例を見るに止つた。然し発赤を伴ふ硬結を表現したもの 数例を認めた。柳原氏¹¹⁾は淋疾に於て、飯田氏¹²⁾は結核に就いて、野村氏¹⁰⁾は軟性下疳に就いて皮内反応を行い、多糖類抗原のみの反応は甚だ微弱であると述べている。私の梅毒皮内反応実験に依れば殆んど陰性に終つた。即ち多糖類劃分よりも蛋白質劃分に近い物質が発赤を特異的に発現するのではないかと考える。然し多糖類劃分が全くこの反応に関与していないとは断定出来ず、蛋白質劃分が主体となり附加的に多糖類劃分が参与して発赤を来すものではないかと考えられる。

結 論

1) 実験的家兎梅毒辜丸腫 1 に対し 4 の割合にペニシリン加蒸溜水を加え 14 日間室温にて浸出し、浸出液を東洋濾紙 No. 6 にて濾過、更に「ベルケフェルド」V にて濾過後 0.5% 石炭酸、0.85% 食塩水溶液となる様に石炭酸及び食塩を加え、之を抗原として梅毒皮内反応を試みた。その結果第一期、第二期、第三期、頭症梅毒に約 20%，早期潜伏梅毒 20%，後期潜伏梅毒約 50%，先天梅毒約 90% の陽性率を示した。又非梅毒者に於て 31 例中 2 例約 6% の非特異性陽性を見た。この陽性を示した発赤の平均値を見るに後天梅毒 2.3 × 1.7 cm，先天梅毒 4.3 × 3.6 cm であつた。この結果先天梅毒には特異的に高度の発赤を表わし先天梅毒に対し診断的価値大なる事を立証した。

2) この抗原は 100°C 加熱する事によりこの特異的発赤を来す抗原性を低下せしめる。

3) 先天梅毒に特異的発赤を来す物質の本態の追求として蛋白質劃分と多糖類劃分とを抽出し各々に就いて皮内反応を試み、蛋白質劃分に於ては先天梅毒に対し約 73% の陽性率を示したのに反し多糖類劃分は殆ど陰性に終つた。即ち蛋白質劃分が主体となり特異的反應を起すものと考えられる。尙蛋白質劃分も 100°C 加熱により抗原性を減弱する事を知つた。

第 13 表 抗蛋白質劃分家兔血清沈降反応

		梅毒家兔睾丸腫浸出液稀釈						蛋白質劃分稀釈						多糖類劃分稀釈					
		10倍	20	40	80	160	320	10倍	20	40	80	160	320	10倍	20	40	80	160	320
十日 目 採 血	No.18 (♂ 2000 g)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	No.19 (♀ 1750 g)	±	±	±	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	No.20 (♀ 1800 g)	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	No.22 (♂ 2100 g)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
十五 日 目 採 血	No.18	±	—	—	—	—	—	—	—	—	±?	—	—	—	—	—	—	—	—
	No.19	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	No.20	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	No.22	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
二十 日 目 採 血	No.18	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	No.19	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	No.20	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	No.22	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

第 14 表 抗多糖類劃分家兔血清沈降反応

		梅毒家兔睾丸腫浸出液稀釈						蛋白質劃分稀釈						多糖類劃分稀釈					
		10倍	20	40	80	160	320	10倍	20	40	80	160	320	10倍	20	40	80	160	320
十日 目 採 血	No.26 (♂ 2200 g)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—
	No.28 (♀ 1800 g)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	±	±	—	—	—
	No.29 (♀ 1780 g)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	No.30 (♂ 2100 g)	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	No.31 (♂ 2250 g)	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
十五 日 目 採 血	No.26	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	No.28	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	No.29	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—
	No.30	—	—	—	—	—	—	±	±	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—
	No.31	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
二十 日 目 採 血	No.26	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	No.28	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	No.30	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	±	±	—	—	—
	No.31	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—
	No.34	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

(3) 抗多糖類劃分家兔血清と3種抗原との沈降反応。

第 14 表に示す如く、殆んど陰性の成績であつた。

(4) 次に先天梅毒患者血清並びに第 4 期梅毒患者血清と此等抗原、即ち梅毒家兔睾丸腫、蛋白質劃分、多糖類劃分の稀釈液との間の沈降反応を試みた。その結果は第 15 表に示す通り全部陰性に終つた。

第二章 補体結合反応

1. 実験方法

(1) 抗原の作製法：第一章 (1) に同じ。

(2) 実験動物：第一章 (2) に同じ。

(3) 免疫方法：家兔梅毒睾丸腫浸出液 1 cc、蛋白質劃分 1 cc、多糖類劃分 2 cc、以上の如く毎日 5 日間家兔耳静脈内に注射した。最終注射後 10 日目に採血した。補体結合反応は本学臨床検査部で行われている北研法を用いた。次に家兔血清の処置は柿下氏に準じ被検家兔血清はその正常抗山羊溶血素を吸収した後即ち働性血清 1 cc に対して洗滌山羊血球 0.1 cc の割

第 15 表

氏 名		梅毒家兎丸腫浸出液稀釈						蛋白質劃分稀釈						多糖類劃分稀釈					
		10倍	20	40	80	160	320	10倍	20	40	80	160	320	10倍	20	30	40	160	320
先患者梅毒血清	金野滋加小	○	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		○	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		○	—	—	—	—	—	±	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		○	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		○	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
進行性梅毒血清	東和森	○	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		○	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		○	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

第 16 表

梅毒家兎丸腫浸出液免疫家兎血清	家兎番号	対照				判定	蛋白質劃分免疫家兎血清	家兎番号	対照				判定	多糖類劃分免疫家兎血清	家兎番号	対照				判定
	No. 34 ♂	L	H	H	H	卅		No. 40 ♂	L	L	L	L	—		No. 46 ♂	L	SP	SP	L	±
	No. 36 ♂	L	H	H	H	卅		No. 43 ♀	L	H	H	H	卅		No. 47 ♂	L	L	L	L	—
	No. 37 ♀	L	H	FeH	K	卅		No. 44 ♂	L	L	L	L	—		No. 49 ♂	L	L	L	L	—
	No. 38 ♂	L	SP	L'	L	±		No. 45 ♀	L	L	L	L	—		No. 50 ♀	L	L	L	L	—
	No. 39 ♀	L	SP	SP	L	±		No. 66 ♂	L	L	L	L	—		No. 52 ♀	L	L	L	L	—
	No. 60 ♂	L	H	H	H	卅		No. 67 ♂	L	L	L	L	—		No. 53 ♂	L	L	L	L	—
	No. 61 ♂	L	H	H	H	卅		No. 68 ♂	L	SP	L	L	±							
	No. 63 ♀	L	SP	SP	L	±		No. 69 ♀	L	L	L	L	—							
	No. 64 ♀	L	H	H	H	卅		No. 70 ♀	L	L	L	L	—							
	No. 65 ♂	L	H	H	H	卅														

合に混じたものを 0°C に於て 1 時間作用せしめた後血清を 60°C 30 分の非働性となし、モルモット補体は採取した 5 時間以内の新鮮なるものを採用した。抗原として梅毒家兎丸腫浸出液、蛋白質劃分、多糖類劃分の各々とし、第一次操作は 37°C の水浴中で第二次操作は 37°C の孵卵器内で行つた。

2. 実験成績

成績は第 16 表に示す通りである。即ち梅毒家兎丸腫浸出液の No. 34, No. 36, No. 37, No. 60, No. 61, No. 64, No. 65, に於ては陽性 (+), No. 38, No. 39, No. 63 に於ては疑陽性 (±) を示した。蛋白質劃分の No. 43 の 1 頭のみが陽性 (+) を示し他の全部は陰性の成績であつた。又多糖類劃分の実験成績は No. 46 のみが疑陽性 (±) を示し他の全部は陰性であつた。

総 括

皮内反応は一般に Allergie と解釈されている。即ち抗原と抗体と生体組織との間の一種固有の反応である。私の梅毒皮内反応も又抗原抗体反応により説明出

来得るのではないかと考え血清学的実験を行つた。先づ沈降反応に於て梅毒家兎丸腫浸出液を以て免疫した家兎血清と抗原稀釈液とは 40 倍～80 倍稀釈まで陽性を示した。この 40 倍～80 倍なる数値が果して完全に抗原抗体反応であると説明出来得るかどうかは疑問であるが 10 倍までは殆んど強陽性を示していた。然し蛋白質劃分を以て免疫した家兎血清と抗原稀釈液との間の沈降反応は陰性であつた。勿論一般には蛋白質劃分に於ては反応因子はないと考えられている。然し反応因子と考えられている多糖類劃分に於ても陰性であつた。此の事実より皮内反応が抗原抗体反応を前提にするならば梅毒皮内反応に於ける蛋白質劃分が特異的に発赤を来すという事実は少しく矛盾を来す結果となる。次に第 15 表に示す通り先天梅毒患者血清と梅毒家兎丸腫浸出液、蛋白質劃分、多糖類劃分の各々の稀釈液との沈降反応を行つたが陰性に終つた。この事実は皮内反応が抗原抗体反応とするならば当然沈降反応が陽性に起つても良いと一応考えられて然るべきである。一方補体結合反応の実験成績を見るに梅毒家兎

辜丸腫浸出液にて免疫せる家兎血清は補体結合反応に於て 10 頭の中 7 頭が陽性を示している。然し蛋白質劃分により免疫した家兎血清は 9 頭中 1 頭が陽性を示したに過ぎない。この事より梅毒家兎辜丸腫浸出液による皮内反応は一応抗原抗体反応と説明し得る。然し若し梅毒皮内反応が抗原抗体反応とするならば蛋白質劃分により 73% の高率に特異的発赤を發現する事実を一体何と説明したら適當であろうか。松原氏¹³⁾は癌皮内反応に就いて癌の特異的抗原乃至抗体の存在を前提として癌物質より抽出した多糖類劃分の血清沈降反応を試みたが陰性に終つたと報告しており、又加来氏¹⁶⁾が言っている様に一般には蛋白質劃分には抗原性はないと言われている。之に対し真柄氏¹⁵⁾は絨毛水溶性物質による妊娠反応に於て反応を起す物質は蛋白質劃分を主体としていると言い、その抗原性に就いては広義の意味に於て過敏反応様機序即ち変調反応であると言っている。以上の如く皮内反応の本態が未だ決定的になされない現在又生体内の複雑なる組織構造よりして、この梅毒皮内反応に於ける特異的な反応は一概に断定するには困難ではあるが、真柄氏の言われる様に一応変調反応と考えるのが適當であろうと考える。

結 論

1) 沈降反応：抗梅毒辜丸腫浸出液血清と梅毒辜丸腫浸出液、同蛋白質劃分、同多糖類劃分の 3 抗原との間の沈降反応は梅毒家兎辜丸腫浸出液倍数稀釈との沈降反応のみ 80 倍まで陽性、320 倍まで大体疑陽性を示した外は全部陰性であつた。抗蛋白質劃分家兎血清、抗多糖類劃分家兎血清と上述 3 抗原との間の沈降反応は全部陰性であつた。

2) 補体結合反応：梅毒家兎辜丸腫浸出液にて免疫

せる家兎血清は 10 頭中 7 頭が陽性を示し他の 3 頭は疑陽性を示し陰性は 1 頭もなかつた。蛋白質劃分にて免疫した家兎血清は 9 頭中 1 頭が陽性を示したに過ぎず他は全部陰性、多糖類劃分にて免疫した家兎血清は 6 頭中 1 頭が疑陽性なる他全部陰性の成績であつた。

3) 以上の結果より梅毒皮内反応も亦確然たる抗原抗体反応とは言い切れず、過敏反応様機序即ち変調反応と考える方が適當であると考ええる。

擧筆に当り終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師北川教授に衷心より謝意を表す。又実験に際し御便宜を計つて頂いた本学臨床検査所の諸氏に心から謝意を表す

引 用 文 献

- 1) Jadassohn : Handbuch d. Haut u. Geschlechtskht
- 2) Planner : Wien Kl. W. No. 36 (1929)
- 3) R. Brandt: Seuchenbekämpfung VI Jahrgang (1929)
- 4) 中野 : Arch. f. Dermt. 116, 281, (1913)
- 5) Fischer u. Klausner : W.Kl. W. Nr. 2 (1913)
- 6) Müller u. Brandt : W. Kl. W. Nr. 11 (1913)
- 7) 野口 : Journal of Experimental Med. (1911)
- 8) Müller u. Brandt : W. Kl. W. Nr. 36 (1929)
- 9) Klausner : München. Med. W. (1914)
- 10) 野村 : 皮性科雑誌 61 (6)
- 11) 柳原 : 日泌会誌 35, (5,6)
- 12) 丸山 : 日泌会誌 21, 582, 24, 251, 34, 6号 7号
- 13) 松原 : 医事新誌 No.7 439
- 14) " : 医事新報 No.1401
- 15) 真柄 : 日婦会誌 44, 3号
- 16) 加来 : 医事新報 No.1302
- 17) 中川 : 日外学会誌 21
- 18) 藤沢 : 日医大誌 16, 8.9.10号
- 19) 飯田 : 結核 26, 8号, 皮性科雑誌, 61, 4号