結核菌の Cord Factor に関する研究

第3報 In vitro における Cord Factor の抗原について

新 明 美 仁

(北海道大学結核研究所細菌部 主任 大原 達教授)

(受付: 10月20日 1958年)

古く Anderson¹⁾⁻¹⁵⁾にはじまる結核菌脂質の研究はその後主として有機化学者の手によつて続けられ、特に Lederer 一門¹⁶⁾⁻²³⁾は菌の脂質についてさらに詳細な分画を行い、Anderson のいわゆる purified wax をアセトン溶解性の差から wax C と wax D の2つに分画した²³⁾。このような化学的な研究に対して医学的な面から1つの橋わたしを与えることになつたのは Bloch²⁴⁾ による cord factor の発見である。その後 Bloch は、Noll, Lederer, Asselineau らの化学者と協同して研究を進めた結果、彼の分離した cord factor が “wax C” 画分中に多量に含まれることを見出し、さらに magnesium silicate-celite を用いるクロマトグラフィーによつてこれを純粋な物質として取り出し得るに至つた。さらに cord factor は、加水分解によつて生ずる生成物の検索、赤外線スペクトルによる構造研究らによつて、trehalose-66'-dimycolate²⁵⁾ である事が現在判明している。このような毒性物質を純粋な形において結核菌から分離し得た事は確かに画期的な事であるが、この物質の免疫学的な特性ならびにその意義についてはいまだ極めて報告に乏しい。この点に鑑み、著者は前報において抗 cord factor 血清の生体内における働きについて調べた結果、cord factor を以て免疫した家兎の血清は、cord factor の有する毒性を明らかに低下せしめる作用がある事を知つた。本報においては cord factor の試験管内において示す反応原性を、重層法による沈降反応及び Ouchterlony²⁷⁾⁻³⁵⁾ の technique による寒天層内拡散法によつて調べたので、以下にその成績を報告する。

実験材料及び実験方法

1) Cord factor: 前報と同様にして人型毒力菌仲野株より分離したものをを用いた。前報に述べた如く、著者は cord factor の研究のため3つの batch の material を別々に抽出したが、本報においては主として最も純度の高い material 3 を使用した。たゞ cord factor の収量は

非常に少いので、免疫に当つて極く一部の家兎には material 2 を用いたが、本実験において material 1 は全く用いられていない。

2) 沈降反応: (A) 術式。通常重層法と agar diffusion technique を併用したが、後者についての術式は既略次の如きものである。

(i) 良質の寒天を30倍の水に溶解し、0.5%の塩化カルシウムで沈澱させた後濾過、上清を凝固せしめ、更にこれを細かい小片に切つて流水に72時間漬ける。(ii) これら細片を加熱融解して等量の1.6%食塩水を加え、更に merthiolate 及び methyl orange をそれぞれ最終濃度が1万倍、3万3000倍になるように加えて保存する。(iii) 用に臨んでこの寒天を Petri のシャーレに流し、第1~4図に示すとき3個の「溜り池」(basin)を作る。下方の basin には抗血清、上方の2つの basin には比較すべき抗原を入れ、生ずる沈降帯の数及び形状を観察した。

(B) 抗原。次の2種の抗原を用いた。

(i) H₂ 抗原。人型菌 H₂ 株の中性水加熱菌体抽出液で次の如くして調製したものである。大量の人型結核菌 H₂ 株をアルコール・エーテル混合液に漬けて十分脱脂乾燥し、粉末状にした菌体を乳鉢内で磨砕しつゝ100倍量の中性蒸留水で乳剤とする。これを振盪しながら100°C30分宛3~4回加熱を反復して菌体成分を浸出、さらに一昼夜37°Cの孵卵機に放置した後上清を Seitz 濾過管で濾す。得られた無色の澄明な濾液を沈降反應用の抗原とした。

(ii) CF 抗原 (cord factor 抗原)。cord factor は水に不溶であるから先づ propylene glycol に cord factor を per cc 1 mg の割合に浮游し、60°C~70°C で約30分加

SHIMMYO Yoshihito: Studies on the cord factor of the tubercle bacillus. 3. Antigenicity of cord factor in vitro. Department of Bacteriology, Research Institute for Tuberculosis, Hokkaido University. Jap. J. of Bact., 14 (6), 485-491, 1959.

熱溶解した後これを氷室に保存、用に臨んど食塩水で10倍に稀釈して沈降反応に用いた。この抗原は完全な溶液ではなく僅かに白濁する微細な suspension であるが、その turbidity は沈降反応の成績判定に何ら支障を来たすものではなかった。

(C) 抗血清

(i) 抗 cord factor 血清。cord factor はその分子量から見てそれ単独で抗体を作り得るや否や疑問であつた為、“Schlepper”として豚血清を加えた上で家兎に注射し抗血清を作つた。免疫操作は前報に記載した通りである。

なお比較のため次の4種の血清を本実験において使用した。

(ii) CF血清。Schlepperを加えず cord factor 単独で免疫した家兎血清。

(iii) 抗豚血清。cord factor の solvent である propylene glycol と豚血清との混合物を以つて免疫した家兎血清。

(iv) 結核血清。人型毒力菌仲野株死菌をもつて免疫した家兎血清。(v) 正常家兎血清。

実験成績

1. 重層法による沈降反応。

cord factor の in vitro における反応原性を検するため、上記の抗 cord factor 血清並びに4種の control sera について cord factor を抗原とする沈降反応を行った。

同時にこれらの血清につき、H₂ 抗原を抗原とした場合の cross reaction をも調べた。反応に用いられた各血清はすべて全採血されたものではなく、適時適宜の量の血清を心臓穿刺により得たもので、沈降反応は多数の家兎につき何回も反復実施されたが、その1例を挙げれば第1表のごとくである。表から明らかなように、cord factor に豚血清を加えて免疫した家兎血清は何れも cord factor を抗原とする沈降反応において陽性の成績を示した。その力価は16倍までで必ずしも高いものではなかったが、反応自体は非常に著明なものであつた事を特に注目したい。しかし cord factor 単独によつて免疫した家兎血清(CF血清)に対しては1例も陽性と思われる成績が認められなかつた点より見て、cord factor は hapten の性状を持つものとする。なお抗 cord factor 血清は H₂ 抗原に対して一部交叉的に反応する場合のある事が観察された。第1表における成績は偶々 H₂ 抗原及びCF抗原の両者に対し殆んど同じような抗体価を示しているが、これは毎常に見られた成績ではなく、一般的に云えば H₂ 抗原に対する力価は非常に低いものでありこゝに記載を省略した例における抗 cord factor 血清はCF抗原に対し著明な抗体価を示すにも拘らず、H₂ 抗原に対しては全く陰性の成績に終つた場合が大多数であつた事を特に附記しておく。

表においてCF血清、抗豚血清及び正常家兎血清の3 control sera が何れの場合にも反応陰性であつた事は当

第1表 CF 及び H₂ 抗原による各種家兎血清の沈降反応成績

血 清	抗原 血清稀釈倍 数 家兎番号	CF								H ₂							
		1×	2×	4×	8×	16×	32×	64×		1×	2×	4×	8×	16×	32×	64×	128×
抗 Cord factor 血 清	1	++	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	2	++	+	+	+	-	-	-	++	+	+	+	+	-	-	-	-
	4	++	+	+	+	+	-	-	++	+	+	+	+	+	-	-	-
	5	++	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-
C F 血 清	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
抗 豚 血 清	21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
正 常 血 清	33	33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	34	34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
結 核 血 清	101	++	+	+	+	-	-	-	++	++	+	+	+	+	+	+	-
	102	++	++	+	+	+	+	-	++	+	+	+	+	+	+	+	-
	105	++	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-

然であるが、結核血清（仲野死菌免疫血清）は C F 抗原及び H₂ 抗原の両者に対し陽性の成績を示した。H₂ 抗原が結核の沈降反応において優れた反応原である事は既に教室の大原ら³⁰⁾が発表している所であるが、第 1 表の成績から見て C F 抗原も十分これと比較し得る抗原であることは明らかである。この場合両抗原に対する結核血清の力価は必ずしも平行するとは云い得ないが、抗 cord factor 血清の場合とは異り、両抗原とも傾向として大体類似した態度を示すようである。

2. Agar diffusion method による沈降反応。

沈降反応に使用される抗原は液状であるため、吸収試験を行う場合には一般に技術的な困難性が伴う。然し agar diffusion method においては各 basin を吸収すべき抗原で前処置することより容易にこの目的が達せられるので、上記重層法による沈降反応を寒天層中でもう一度繰返すと共に、吸収試験によつて cord factor, H₂ 抗原及び旧ツベルクリンの抗原的異同を調べて見た。

第 1 図はツベルクリンと cord factor との抗原的異同を調べたもので、下方の basin には結核血清を入れ、左上方の basin にはツベルクリン、右上方の basin には cord factor をそれぞれ入れて互に拡散せしめた場合の結果を示すものである。図に見られるように結核血清とこれら 2 つの antigen との間にはそれぞれ 2 本宛のはつきりした precipitate band が観察される。この事はこれら antigen と結核血清との間に最小限 2 つの抗原抗体反応系の存在する事を示すものであるが、図の反応は Ouchterlony の云う non-identity reaction で、ツベルクリンと cord factor との間には抗原的に共通したものない事を示している。換言すれば、結核血清中に含まれる抗体のうちツベルクリンと結合する 2 つの抗体と、cord factor に結合する 2 つの抗体とは別個のものである。この事は吸収試験を行つて見ると一層はつきりする。即ちこの diffusion medium を予めツベルクリンで前処置した後（ツベルクリンで吸収した事になる）上と全く同じことをやつて見ると、第 1 図において左側に観察された 2 本の tuberculin bands は消失するが、右側に観察されていた cord factor による band は何の变化も受けない。同様に、cord factor による前処置は第 1 図の右側に現われていた cord factor bands を消失せしめたが tuberculin bands には何の影響も与えなかつた。従つてこの実験より見れば、ツベルクリンと cord factor は何れも結核血清と陽性の沈降反応を呈するが、お互の間に共通した抗原因子は存在しないようである。

これに反し H₂ 抗原とツベルクリンとの間には少くと

も 1 個の共通する因子の存在することが示された。第 2 図に見る如く、左上方の basin に H₂ 抗原、右上方の basin にツベルクリンを入れて結核血清（下方の basin）との間の反応を調べると、形成された band のうち 1 本は融合して図の如き緩やかな V 字形を作る。かかる融合（coalescence）の現象は Ouchterlony の云う identity reaction を意味するもので、ツベルクリンの持つ抗原因子と H₂ 抗原を構成する抗原因子のうちには共通する部分のある事を示している。

この実験に用いられた抗原は何れも抗原構造から見て単一なものとは考えられないから agar diffusion technique において観察された band が単一の band ではなく複数であつた事は当然である。例えば抗 cord factor 血清を作る際 Schlepper として用いられた豚血清と抗 cord factor 血清との間に見られた band の如きは 7 本乃至 9 本にも達し（第 3 図）、豚血清の抗原的な多多元性が明らかに示されていた。然るに cord factor とその抗血清との間の反応は、著者の用いた cord factor が化学的に純粋なものではないにも拘らず、常に、僅か 1 本の band しか観察されなかつた（第 4 図）。故に我々の cord factor は、化学的な純度はともあれ、抗原的に見た限りにおいて単一な抗原と考えて差支えなからう。なお抗 cord factor 血清に対して H₂ 抗原又は旧ツベルクリン抗原とする寒天拡散反応を行つた場合には、全く precipitate band が形成されなかつた。即ち agar diffusion technique において抗 cord factor 血清と陽性の反応を示したものは cord factor のみで、H₂ 抗原とツベルクリンの両者は何れもこの血清と反応しなかつた。この事もまた前述の吸収試験の成績を裏書きするもので、cord factor は H₂ 抗原及びツベルクリンの何れとも、共通する抗原因子を持たないと考えられる。

考 察

本報は人型菌仲野株より分離した cord factor（この名称の可否に関しては既に第 1 報に述べた）について試験管内における抗原性を調べたものであるが、この物質は豚血清と混じて家兎の静脈内に注射した場合、specific な抗体を作る事が確かめられた。cord factor のような lipid material に “Schlepper” を加えて動物を免疫すれば抗体のできる事は当然のように思われるが、この事実はいまだ何処にも報告されていない。けだしその原因は、cord factor に対する抗血清が非常に作りにくい事にあるものと思われる。この実験において比較的強い沈降反応を示した血清は、非常に強く免疫された家兎のみか

ら得られたもので、実際的には15回から21回も免疫操作が繰り返され、免疫期間も6ヵ月から10ヵ月の長期に亘るものであった。得られた免疫血清の力価はさほど高いものではなく、最高の力価を示した血清でも cord factor に対し32倍稀釈まで陽性の反応（重層法）を示したに過ぎなかった。然し力価の高低は兎も角、cord factor に対する抗体を現実には作り得たこと、並びにこの抗体が前報に報告した如く cord factor の毒性を減殺せしめる作用を持つものである事は興味ある事実と云うべきであろう。

但し cord factor が抗体を産生するためにはSchlepperを必要とし、それ単独では抗体を作らないから（第1表）このものは hapten と考えられる。このことは cord factor の分子量（約2850）から見ても当然の事と思われるが、cord factor の単独注射でも、より強度に免疫を行った場合には、絶対に抗体産生を見ないと断言する事はできないかも知れない。然し実際上は、cord factor が毒性を有するため、本実験に用いた量以上の注射には家兎が耐え得ないのではないかと考えられる。

Cord factor はまた、仲野株死菌を以て免疫した家兎血清とも陽性の沈降反応を呈した。cord factor は結核菌菌体成分の1つであるから、菌をもつて免疫した血清中に cord factor に対する抗体が含まれている事は何ら不思議ではない。然しながらこの点についても、われわれはいまだかゝる報告に接していない。cord factor の発見者である Bloch 自身ですらこれに失敗し³⁰⁾、結核血清と cord factor との反応は満足すべき結果を与えなかったと述べている。先に教室の大原ら³¹⁾³²⁾は結核の沈降反応において H_2 抗原が優れた反応原であること、この際反応の強さは大体結核免疫の強さと平行するものであることを報告しているが、この実験により、cord factor もまた結核の沈降反応に十分用い得べき反応原である事が明らかにされた。但し H_2 抗原による抗体価と cord factor による抗体価とは必ずしも平行しない。この点について教室の石山ら³³⁾の調べたところによれば、一般的に見て H_2 抗原よりも cord factor 抗原の方が疾患の重症度と比較的平行するように思われた。即ち結核患者42例を臨床症状及びレントゲン所見に従つて重症、中等症、軽症の3つに分ち、 H_2 抗原及び cord factor 抗原による沈降反応の成績を比較して見ると、重症患者においては cord factor 抗原に対する反応の方が H_2 抗原よりも強く現われ、一方中等症及び軽症患者血清では cord factor に対し沈降反応陽性を呈するものが殆んど無かつた点から見て、cord factor に対する抗体は疾患の軽重と何らかの関

係があるものように見受けられた。然し cord factor が真に結核症の重症度判定の一助になり得るか否かに関しては更に研究を要するものとする。

Agar diffusion による沈降反応においては第4図に示したように cord factor と抗 cord factor 血清とを互に拡散せしめた場合、常にたつた1本の precipitate band しか観察されなかつた。この事は一応著者の用いた cord factor が抗原的に単一であることを示すものである。然しながら、厳密に云うならば、この1本の precipitate band が確かに cord factor とその抗体との interaction によつて形成されたものであると断定する為には、当然用いた cord factor の化学的純度が問題にされなければならない。著者の用いた cord factor は既に述べた如く高度に純化されたものではなく、その中に wax D の混入している恐れが全くないとは云い切れない。こゝで著者は、結核菌の蠟成分中 wax D の示す抗原性について先人の文献をたずねて見たいと思う。武田ら⁴⁰⁾は青山B株より chloroform で抽出した wax 画分で家兎を免疫して結核菌多糖類との間に陽性の沈降反応を示す血清を得、wax 単独で免疫しても、又豚血清を添加しても抗体産生に差異はなかつたと述べている。但しこの時用いた wax は自らも云っている如く wax C 及び wax D に一部は“soft wax”も混じている不純なものであつた。そこで彼ら⁴¹⁾は Anderson の“purified wax”より Asselineau & Lederer の方法によつて分離された wax C 及び wax D についてそれぞれ赤血球凝集反応を行い、wax D にはこの反応に関与する抗体を産生する能力があるが、wax C 及び wax B にはこの能力がなく、かゝる免疫学的な性状の差違は恐らく wax D かに含まれる polysaccharide の存在に起因するものであらうと述べている。又 Choucroun⁴²⁾は彼女の分離した Pmko に抗体産生作用のある事を認めているが、このものは carbohydrate lipid complex で化学的な性状から云うと wax D に相似するものと考えられている。以上の報告から見ても、wax D に単独で抗体を産生せしめる能力がある事は疑いない。さて著者の用いた material は仮令完全に純化されたものではなかつたとしても、マウスに対する毒性から見て、これが純粋に wax D のみから成つていると云う事は考えられない。何となれば、Choucroun から分与を受けた wax D について詳細に研究した Asselineau, Bloch & Lederer⁴³⁾も発表している如く、この fraction には全く毒性が認められないからである。又著者の用いた cord factor にある程度の wax D が混入しているものならば、このものは単独で抗体を作るのであ

るから抗 cord factor 血清のみならず CF 血清 (cord factor 単独で免疫した血清) も同様に cord factor と反応して良い筈である (この場合の反応は勿論 cord factor 中に contaminate している wax D とこれに対する抗体との間の反応の意である)。

一方、著者の本報に用いた抗血清は、前報において cord factor の毒性を減殺する作用のある事が明らかにされている。この作用から見て、本血清中には少なくとも cord factor そのものに対する抗体が存在する事は間違いない事実である。従つて若し著者の用いた抗 cord factor に対する、cord factor に対する抗体のほかに wax D に対する抗体が共存していたとすれば、特殊な理由のない限り生ずる band の数は 2 本になる筈である。然るに事実は第 4 図に見る如く cord factor との間に唯 1 本の precipitate band した形成されなかつた。以上を考え併せるならば、こゝに観察された単一の band は、混在するかも知れない wax D とその抗体との間にできたものとするよりも、cord factor とこれに対する抗体との interaction によつて生じたものとする方が遙かに論理的であると思ふ。この点を更に明確にするには純粋な wax D を用いて交叉試験を行えば良いが、目下 wax D を純粋な形で分離しつゝあるので、近い将来にその結果を報告し得ると思ふ。

Cord factor と H_2 抗原及び旧ツベルクリンの三者間における抗原的な異同に関しては、後二者間に少なくとも 1 つの共通抗原が存在する事と、cord factor と他の二者との間には共通するような抗原因子の無い事、との 2 つが明らかになつた。この事は寒天内吸収試験によつても明らかであるし、又抗 cord factor 血清に対し H_2 抗原及びツベルクリンが何れも反応しなかつた事からも明らかである。

然しながらこの事実は第 1 表の成績と明らかに矛盾する。何となれば第 1 表において、抗 cord factor 血清上に H_2 抗原を重層して沈降反応を検した場合、陽性の反応が観察されているからである。この事は免疫原として用いられた cord factor 中に、何か H_2 抗原と共通するような抗原因子の含まれていた事を暗示している。何故重層法においてのみこのような成績が得られたかについては追求を要するところであるが、恐らくこれは cord factor 中に contaminate していた不純物によるものではないかと想像される。その理由としては、既に述べた如く、第 1 表の如き成績がすべての抗 cord factor 血清に毎常見られたものでない事を挙げ得ると思ふ。衆知の如く cord factor は非常に収量が少いため、抗 cord factor

血清の調製に当つて、大部分の家兎には最も純度の高い material 3 を用いたが、免疫操作反復中一部のものには material 2 を併用せざるを得ないものがあつた。Agar diffusion technique に用いられた抗 cord factor 血清はすべて material 3 のみで免疫されたものであるが、第 1 表に示した血清には一部に material 2 が用いられている。material 2 は未だかなりの窒素を含み純粋なものではないため上述の如く H_2 抗原との間に cross reaction を来したのであろう。尚第 1 表は故意にかゝる例を挙げたもので、この表に記載しなかつた抗 cord factor 血清では H_2 抗原に対する反応が見られなかつた事は前に述べた通りである。かく考えれば agar diffusion technique による成績と第 1 表との矛盾は一応説明されるように思われる、なお cord factor, H_2 抗原及びツベルクリンの抗原構造に関してはより詳細な研究を目下続行中である。

結 論

1) Cord factor に豚血清を加えて家兎を免疫すると得たる血清は cord factor と陽性の沈降反応を呈する。cord factor 単独ではかゝる抗体形成作用が見られなかつた。

2) 結核血清も試験管内において cord factor に対し陽性の沈降反応を示す。但しこの場合の抗体価は H_2 抗原とした場合の抗体価と必ずしも平行しない。

3) Cord factor は H_2 抗原又は旧ツベルクリンと共通する抗原因子を有しない。

稿を終るに当り、終始御指導御校閲を賜つた大原教授並びに御協力頂いた本研究所化学部関川講師に深謝する。尚本論文の要旨は第 30 回日本細菌学会総会 (千葉) において述べた。

引用文献

- 1) Anderson, R. J.: J Biol. Chem., 83, 169, 505 1929.
- 2) Anderson, R. J.: J. Biol. Chem., 85, 325, 351, 1929-30.
- 3) Anderson, R. J.: J. Biol. Chem., 97, 639, 1932.
- 4) Anderson, R. J.: Physiol. Rev., 12, 166, 1932.
- 5) Anderson, R. J.: Fortschr. Chem. Organ. Naturstoffe., 3, 145, 1939.
- 6) Anderson, R. J.: Chem. Rev., 29, 225, 1941
- 7) Anderson, R. J.: Yale. J. Biol. & Med., 15, 31, 1943.

- 8) Anderson, R. J. & Chargaff, E. : J. Biol. Chem., 84, 703, 1929.
- 9) Anderson, R. J. & Chargaff, E. : J. Biol. Chem., 85, 77, 1929.
- 10) Anderson, R. J. & Newmann, M. S. : J. Biol. Chem., 101, 499, 773, 1933.
- 11) Anderson, R. J. & Newmann, M. S. : J. Biol. Chem., 103, 197, 1933.
- 12) Anderson, R. J., Crowder, J. A., Newmann, M. S. & Stodola, F. H. : J. Biol. Chem., 113, 637, 1936.
- 13) Anderson, R. J., Reeves, R. E. & Stodola, F. H. : J. Biol. Chem., 121, 649, 1937.
- 14) Anderson, R. J., Reeves, R. E. & Crowder, J. A. : J. Biol. Chem., 121, 669, 7937.
- 15) Burt, M. L. & Anderson, R. J. : J. Biol. Chem., 94, 451, 1931.
- 16) Asselineau, J. & Lederer, E. : Bull. Soc. Chim. Biol., 31, 492, 1949.
- 17) Asselineau, J. & Lederer, E. : C. r. Acad. Sci., 228, 1892, 1949.
- 18) Asselineau, J. & Lederer, E. : C. r. Acad. Sci., 230, 142, 1950.
- 19) Asselineau, J. & Lederer, E. : Nature., 166, 782, 1950.
- 20) Asselineau, J., Choucroun, N. & Lederer, E. : Biochim. Biophys. Acta., 5, 197, 1950.
- 21) Asselineau, J. & Lederer, E. : Biochim. Biophys. Acta., 7, 126, 1951.
- 22) Lederer, E. & Pudles, J. : Bull. Soc. Chim. Biol., 33, 1003, 1951.
- 23) Asselineau, J. & Lederer, E. : Fortschr. Chem. Organ. Naturstoffe., 10, 226, 1953.
- 24) Bloch, H. : J. Exp. Med., 91, 197, 1950.
- 25) Noll, H., Bloch, H., Asselineau, J. & Lederer, E. : Biochim. Biophys. Acta. 20, 299, 1956.
- 26) Gendre, T. & Lederer, E. : Bull. Soc. Chim. France., 1478, 1956.
- 27) Ouchterlony, Ö. : Acta. Path. Microbiol. Scand., 25, 186, 1948.
- 28) Ouchterlony, Ö. : Ark. Kemi. Min. Geol. 263: 1, 1949.
- 29) Ouchterlony, Ö. : Acta. Path. Microbiol. Scand., 26, 507, 1949.
- 30) Ouchterlony, Ö. : Acta. Path. Microbiol. Scand., 26, 516, 1949.
- 31) Ouchterlony, Ö. : Lancet., 256, 346, 1949.
- 32) Ouchterlony, Ö. : Ark. Kemi., 1, 43, 1949.
- 33) Ouchterlony, Ö. : Antigen-antibody reaction in gels and practical application of this phenomenon in the laboratory diagnosis of diphtheria, Thesis, Stockholm., 1949.
- 34) Ouchterlony, Ö. : Acta Path. Microbiol. Scand. 32, 231, 1953.
- 35) Ouchterlony, Ö. : Atti del VI. Congresso Internazionale di Microbiologia, Vol. II., pp. 276-286, Roma, 1953.
- 36) Bloch, H. : Personal communication.
- 37) 大原 達・中川駿一郎 : 東京医事新誌, 68(12), 5, 昭26.
- 38) 大原 達・高瀬 一・池端 隆・荻田友雄・谷野政次・中川駿一郎 : 結核の研究 '第1集, 39, 1953.
- 39) 石山司浪・澄川栄一郎・新明美仁 : 結核の研究 第8集, 33, 1957.
- 40) 武田徳晴・太田運男・簗湧 泉 : 医学と生物学 4, 88, 昭18.
- 41) Takeda, Y., Aoki, Y., Wakita, N., Watanabe, T., Kasai, N. & Suzuki, H. : Jap. J. Tuberc., 2 (4), 361, 1954.
- 42) Choucroun, N. : Am. Rev. Tuberc., 56, 203, 1947.
- 43) Asselineau, J., Bloch, H. & Lederer, E. : Am. Rev. Tuberc., 67, 853, 1953.

第 1 図

第 2 図

第 3 図

第 4 図

第 1 図	A = ツベルクリン	B = Cord factor	C = 結核血清
第 2 図	A = H ₂ 抗原	B = ベルクリン	C = 結核血清
第 3 図	A = Cord factor	B = 豚血清	C = 抗 Cord factor 血清
	全体の basin を予め Cord factor によつて前処置		
第 4 図	A = Cord factor	B = 豚血清	C = 抗 Cord factor 血清
	全体の basin を予め豚血清によつて前処置		