

肺結核に於ける沈降反応

第2報:人型結核菌の多糖類並びに蛋白体による沈降反応*

長崎大学風土病研究所病理部(主任:登倉教授)

国立佐賀療養所(所長:後藤博士)

小 田 俊 見
お だ し み

本編の要旨は、昭和33年10月12日、第13回国立病院療養所総合医学会・
京都に於いて口演発表した。

The Precipitin Reaction in Pulmonary Tuberculosis. Report II. The precipitin reaction with polysaccharide and protein fractions from tubercle bacilli. Toshimi ODA, Pathological Department, Research Institute of Endemics, Nagasaki University (Director: Prof. Noboru TOKURA), and National Saga Sanatorium (Director: Dr. Masahiko Goiō).

緒 言

Mycobacteria の菌体に於いて、糖質は主として多糖類の形で存在するのであるが、独立した構成成分として含まれていることは少なく、大部分は他の構成成分と結合しており、これを除去することが困難であったために、古典的な研究は化学的に正確でないものが多い。結核菌の多糖体の分離に関しては、Zinsser (1921), Zinsser & Parker (1923) 等が結核菌体を乾燥磨砕した粉末から蛋白質を醋酸で除去した後に蛋白反応陰性の物質を得て、"Residue Antigen" と命名したのを初めとし、続いて、Zinsser & Tamiya (1923), Heidelberger & Menzel (1932) 等の業績があり、Laidlaw & Dudlay (1925) は脱脂した結核菌体よりアルコールで二つの多糖類を抽出して、その中の一つはブドウ糖と五炭糖(主に D. アラビノース)とから成るゴム状物質であつて、この物質は結核死菌免疫馬血清と 6.400.000倍稀釈で沈降反応を起こすが馬を感作する力は無いと述べ、Haworth, Kent & Stacey (1948) は結核菌の加熱死菌から得た多糖類が結核患者血清と 2.000.000倍稀釈で沈降反応を呈することを証明した。しかし、第1報で述べた如く、Doan (1930) は、結核感染の人体及び動物には結核

菌多糖体に対する沈降素は証明されるけれども診断の実用に供し得るほどではないと言ひ、Ludewig & Anderson (1932) も人型結核菌を酒精及びエーテルを以つて処理して多糖類を得たが、それによる沈降反応は見られなかつたと報告している。

結核菌培養濾液中の多糖類の研究は、Mueller(1925), Renfrew (1930), Masucci, McAlpine & Glenn (1930/31), Tennent & Watson (1942) 等の業績があり、就中、Seibert (1949), Seibert, Stacey & Kent(1949) 等は電気泳動法を使用して二つの多種類を分離して、その中、Polysaccharide II は結核菌で感作された馬血清とは著明な沈降反応を示すが、結核ウサギ又は患者の血清とは余り反応しないと述べ、Hooper, Renfrew & Johnson (1930) はツベルクリンから分離した Polysaccharide は 4.000.000 倍まで抗結核血清と沈降反応を示したと述べているが、此等諸学者の数多の研究を要約すれば、結核菌多糖類は或程度強力な生物学的作用、殊に沈降反応の作用のあることは大体一致した観察であると言ふことができる。

一方、結核菌体内に存在する蛋白質は、その培養濾液中に産生される蛋白質と共に注目され、Zinsser & Mueller (1925) 等によれば旧ツベルクリンの酒精及

* 長崎大学風土病研究所業績 第309号

び醋酸による沈澱から得た蛋白質は、皮膚反応は強度に呈するが沈降反応は極めて弱いと言われている。

我国に於いても同様の研究は多い。石井(1938)は、人型、牛型結核菌のアルコール、アセトン処理で得た乾燥粉末と免疫家兎血清との間の沈降反応に於いて、人型菌では 100,000~500,000倍、牛型菌では100,000倍の沈降価を認め、続いて、Takeda, Ohta & Sato(1939)等の azetylpolysaccharide、戸田 & 村田(1938)、村田(1939)等の Polysaccharid-Stoff に沈降元としての性能が認められ、桑島(1939)、石井(1940)等は tuberculin 劃分中の沈降元性物質は三塩化醋酸では沈澱しないと云い、石井(1940)は皮膚反応物質は三塩化醋酸で沈澱すると結論している。戸田(1942)は、ソートン・ツベルクリンの多糖類及び蛋白体の加熱死菌免疫家兎血清との沈降反応の観察に於いて、多糖類に 250,000 乃至 600,000 倍、蛋白体に 1,000 乃至 2,000 倍の沈降価を認め、中武(1943)は人型菌より Boivin 法により抽出した多糖類を抗原として結核死菌免疫家兎血清と 4,000:000倍、患者血清と 2,000,000倍まで沈降反応を認め、ツベルクリン多糖類を抗原として結核免疫家兎血清に対して40,000倍、ツベルクリン蛋白体を抗原として同じく 4,000 倍まで沈降反応を認めた。この外、蛋白体を抗原としての業績(井上 1951)、磷脂質及び多糖類の抗原性の研究(秋山1952)、D-glucose を主とした一多糖体による沈降反応の報告(塩沢1952)等があり、太田(1956)は結核菌多糖類抗原を以つて肺結核患者血との沈降反応で94%の陽性率を認め、臨床所見と一致したと報告した。要するに、結核菌蛋白体は皮膚反応を強く現わし、結核菌多糖体が沈降反応を強く現わすと思つてよいであろう。

著者は、第1報に於いて人型結核菌ソートン・ツベルクリンを抗原として肺結核患者血清との間に行つた沈降反応の成績を報告したが、今回は、人型結核菌体より抽出した多糖類並びに蛋白体を以つて肺結核患者血清との沈降反応を施行し、その成績と臨床症状との関連性を知るために実験を進めた。

実験方法

1. 抗原の調製

Sauton 培地に約 8 週間培養して充分発育した人型結核菌青山株をコッホ釜で 100°C/30分間殺菌し、滅菌濾紙を以つて濾過して菌体を集め、それを滅菌蒸留水で 3 回洗滌して不純物を除き、濾紙を以つて水分を除去し、そのものから兩割分の抽出を図つた。

1) 結核菌体多糖類の抽出法

上記結核菌体に瑪瑙の乳鉢に於いて菌体と略々同量

の滅菌海砂を添加し、滅菌蒸留水を少量宛加えながら約30分間磨砕し、菌塊の倍量の滅菌蒸留水に浮遊させて48時間氷室内、次いで24時間 37°C の孵卵器内に納め、その間、1日約1時間宛振盪機で振盪し(1分間約60乃至80回)、図1に表示した如く、毎回3,500回転1時間遠心沈澱を施し、pH 6.6の上清液をpH 7.0に修正して、Boivinの三塩化醋酸法に準じて結核菌体多糖類の抽出を行つた。まず、4%トリクロール醋酸を約3倍量に加え(pH 1.8)、氷室内に48時間、37°Cの孵卵器内に24時間放置した後、遠心沈澱によつて得た上清液をSeitzの濾過器で濾過して市販セロハン紙に入れ、それにtoluolを重層し、流水中に於いて48時間透析し、湿濾紙を以つて濾過してtoluolを除去、低温(39°C以下)に於いて約1/10に減圧濃縮した後、3倍量のアセトンを加え、氷室に24時間、室温に12時間放置後遠心して得た沈澱を蒸留水に溶解(pH 6.8~7.0)、4%トリクロール醋酸を加えてpH 3.8とし、氷室内に24時間放置、遠心上清液を再び流水を以つて24時間透析、次いで、3倍量アセトンを加えて氷室に48時間放置後、図1に示したような操作過程を反覆して最後の遠心沈澱をアセトンで5回、エーテルで3回洗滌し、真空乾燥によつて湿量90gの菌体より略々白色の多糖類約165mgを得た。なお、第1回、第2回目の遠心後の残渣並びに沈澱から再度遠心上清液を採つて原上清液に加え、収量の損失を避けるようにした。

2) 結核菌体蛋白体の抽出法

図1に示した如く、第1回目の遠心残渣に約100ccの蒸留水を加え、更に、その遠心残渣に再び蒸留水を加えて遠心した上清液に4%トリクロール醋酸を加え(pH 1.2)、氷室に24時間、孵卵器に24時間放置してから得た沈澱と多糖類抽出に用いた第3回目の遠心後の沈澱を加えて、この混合物から蛋白体の抽出を行つた。すなわち、これらの沈澱混合物を蒸留水に溶解し、10%トリクロール醋酸を加えてpH 3.8とし、氷室に24時間、孵卵器内に12時間放置後遠心した沈澱を蒸留水に溶解し(pH 5.8)、暫時放置、その遠心上清液に10%トリクロール醋酸を加えて(pH 3.8)、氷室に24時間放置し、その遠心した沈澱に蒸留水を加えて溶解し(pH 5.8)、氷室に24時間放置した後、市販セロハン紙を以つて流水中に於いて透析、更に、24時間後遠心、その上清液に10%トリクロール醋酸を加え(pH 4.0)、氷室に24時間、室温に12時間放置後遠心した沈澱をアセトンで洗滌して蒸留水に溶解し(pH 5.8)、再度氷室に24時間放置して遠心した上清液に10%トリクロール醋酸を加え(pH 4.0)、氷室に24時間、室温に12時間放置後遠心して、その沈澱をアセトンを以つ

図 1 結核菌体多糖類並びに蛋白体の抽出法

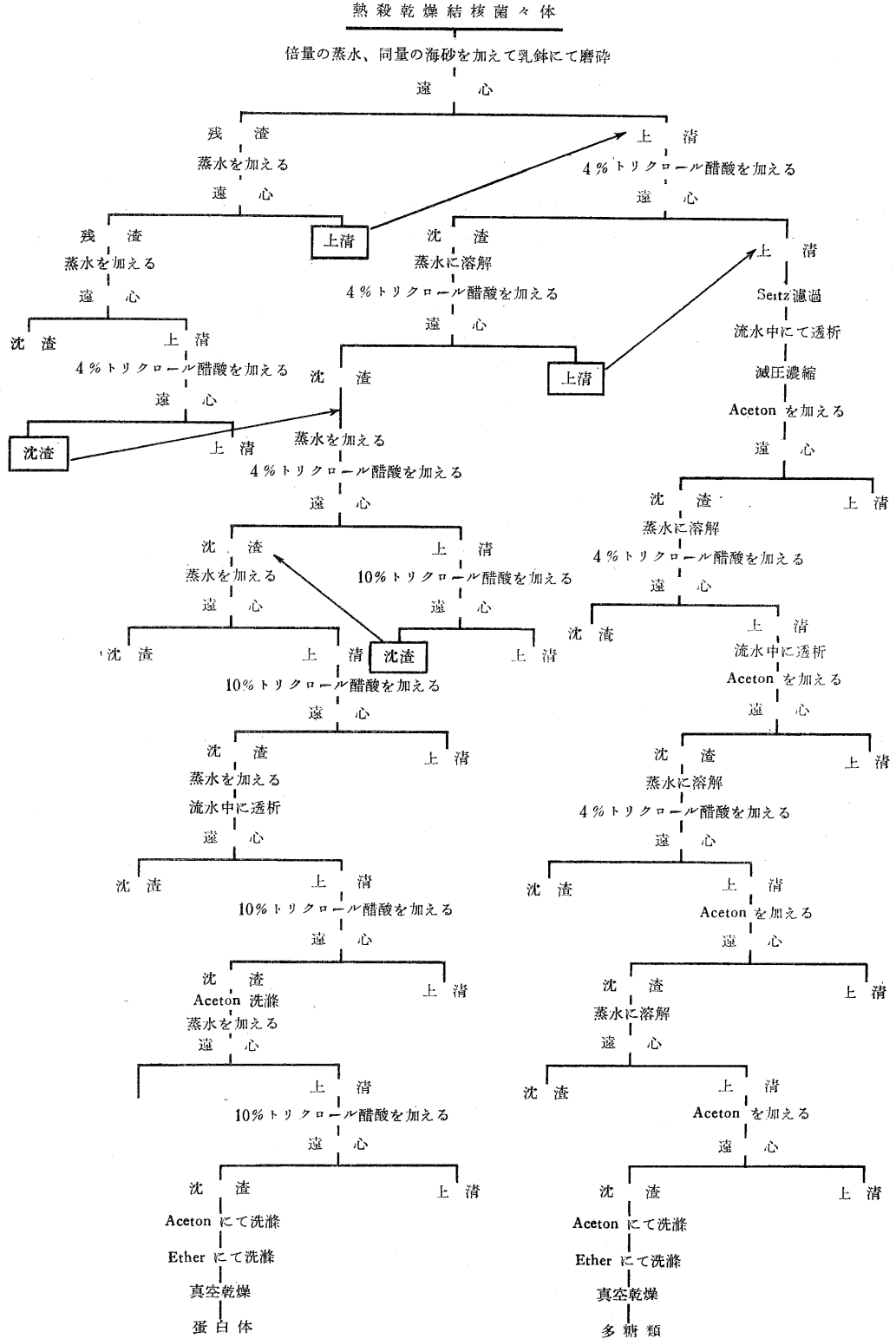


表 3 (其の一) 結核菌体多糖類並びに蛋白体抗原による肺結核患者血清の沈降反応

番 号	氏 名	PPS 抗 元 価							PPD 抗 元 価							排 菌	進 展 度	赤 沈 値	経 過 年 数	
		4000	8000	16000	32000	64000	128000	256000	512000	1024000	800	1600	3200	6400	12800					25600
1	中村 ♂	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	±	-	-	-	-	G ₅	高	4	2年4月
2	岩橋 ♂	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	±	-	-	-	(-)	高	37	5年3月
3	江崎 ♀	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	±	-	-	-	(-)	中	10	1年1月
4	古川 ♀	±	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	(-)	中	58	2月
5	池田 ♂	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	G ₄	中	86	3月
6	横田 ♀	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	±	-	-	-	-	G ₃	中	30	5年5月
7	米倉 ♂	+	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	G ₄	中	59	7年4月
8	大石 ♂	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	±	-	-	-	(-)	軽	4	4年
9	古賀 ♀	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	±	-	-	G ₃	中	34	7年3月
10	川原 ♂	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	(-)	軽	38	6年3月
11	錦戸 ♂	+	+	+	±	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	(-)	軽	7	3年10月
12	安武 ♂	+	±	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	培(+)	中	4	6年5月
13	渡辺 ♀	+	+	+	+	±	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	(-)	中	6	6年
14	井本 ♀	+	+	+	±	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	(-)	中	82	3月
15	八谷 ♂	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	±	-	-	G ₇	高	35	6年7月
16	花田 ♂	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(-)	軽	5	1年10月
17	逸水 ♂	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	±	-	-	-	(-)	軽	9	3年7月
18	松隅 ♂	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	(-)	軽	4	1年7月
19	富永 ♂	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	培(+)	中	12	6年
20	川崎 ♂	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	(-)	中	22	2年7月
21	梶山 ♂	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	培(+)	中	35	3年1月
22	古沢 ♂	+	+	±	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	(-)	中	4	2年5月
23	武富 ♀	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	(-)	中	19	3年9月
24	池田 ♂	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	(-)	中	17	1年4月
25	末永 ♀	+	+	+	+	±	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	G ₅	中	66	5年2月
26	芦原 ♂	+	+	+	+	+	+	±	-	+	+	+	+	+	±	-	(-)	軽	17	9月
27	岩永 ♀	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	G ₄	高	43	5年9月
28	芦原 ♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(-)	中	61	3年2月
29	下平 ♂	+	+	±	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	(-)	軽	1	10月
30	原 ♂	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(-)	軽	4	1年2月
31	武藤 ♂	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	G ₈	中	9	3年4月
32	高島 ♂	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	(-)	中	81	1年3月
33	西ノ首 ♂	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	G ₂	高	76	1年9月
34	荒川 ♀	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	G ₇	高	47	3年9月
35	平田 ♀	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	±	-	-	(-)	軽	9	9月
36	吉村 ♀	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	G ₆	中	21	4年4月
37	松尾 ♀	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	G ₁	高	87	7年
38	中島 ♀	+	+	+	±	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	(-)	軽	49	2年
39	大谷 ♂	+	+	+	±	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	G ₂	中	70	3月
40	緒方 ♂	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	(-)	中	49	3月
41	宮副 ♂	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	G ₆	中	44	4年1月
42	吉田 ♂	±	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	G ₇	高	40	5年5月

第 2 (其の二)

結核菌体多糖類並びに蛋白体抗原による肺結核患者血清の沈降反応

番号	氏名	PPS 抗 元 価								PPD 抗 元 価							排菌	進展度	赤沈値	経過年数
		4000	8000	16000	32000	64000	128000	256000	512000	1024000	800	1600	3200	6400	12800	25600				
43	山崎♀	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	G ₆	高	54	7年6月
44	向井♀	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	G ₂	中	39	1年10月
45	牛草♂	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	G ₅	中	62	7年9月
46	白井♂	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	(-)	軽	7	11月
47	高森♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(-)	軽	1	7年1月
48	藤山♂	+	+	±	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	(-)	軽	4	2年10月
49	藤戸♀	+	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	(-)	軽	14	1年4月
50	陶山♀	+	+	+	+	+	±	-	-	+	+	+	+	+	-	-	(-)	中	53	2月
51	木全♀	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	±	-	-	-	-	(-)	中	22	2年2月
52	内川♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(-)	軽	9	7月
53	豆田♂	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	(-)	中	16	3年4月
54	平川♀	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	(-)	軽	10	2年6月
55	山田♀	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	(-)	中	3	6年
56	藤田♂	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	G ₇	高	41	3年7月
57	布江♂	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	G ₄	高	53	5年5月
58	江頭♀	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	G ₃	高	69	11年
59	角田♂	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	G ₄	高	78	4年
60	森口♀	+	+	±	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	G ₄	高	78	2月
61	野中♀	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	G ₄	中	35	2年4月
62	竹下♂	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	G ₃	中	34	6年2月
63	古賀♂	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	(-)	中	6	2月
64	森崎♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(-)	軽	5	3年1月
65	宮原♂	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	(-)	軽	5	10年4月
66	小林♂	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	±	-	-	-	G ₃	中	5	2年11月
67	橋口♀	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	(-)	中	39	2月
68	島内♀	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	G ₇	高	80	5年2月
69	無津呂♀	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	(-)	中	73	2年1月
70	谷口♂	+	±	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	±	-	-	(-)	軽	2	8月
71	古賀♀	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	±	-	(-)	軽	13	2年1月
72	坂井♀	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	±	-	G ₄	中	62	11年6月
73	森♂	±	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	G ₂	中	31	2月
74	下村♀	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	G ₄	中	93	3月
75	江口♂	+	+	+	+	±	-	-	-	+	+	+	±	-	-	-	G ₄	中	57	4月
76	堤♂	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	G ₃	中	5	9月
77	浅野♂	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	(-)	中	15	10年
78	高橋♀	±	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	G ₂	軽	35	7月
79	三芳♂	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	(-)	軽	12	1月
80	堤♂	+	±	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	G ₄	高	78	6年3月
81	高峰♂	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	±	-	-	-	-	G ₆	中	25	1年10月
82	久保田♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	培(-)	中	50	5年2月
83	荒巻♂	+	±	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	(-)	軽	71	4月
84	橋本♀	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	培(+)	中	81	6年

表 3 (其の三) 結核菌体多糖類並びに蛋白体抗原による肺結核患者血清の沈降反応

番 号	氏 名	PPS 抗 元 価								PPD 抗 元 価						排 菌	進 展 度	赤 沈 値	堅 過 年 数	
		4000	8000	16000	32000	64000	128000	256000	512000	1024000	800	1600	3200	6400	12800					25600
85	渡辺 ♂	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	(-)	中	24	2年8月
86	淘山 ♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(-)	高	88	12年2月
87	原口 ♀	±	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	G ₆	高	80	7年
88	古賀 ♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G ₅	高	89	5年10月
89	森永 ♀	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	G ₃	中	78	1年9月
90	赤坂 ♂	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	(-)	軽	32	3年11月
91	佐保 ♀	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	G ₃	高	64	7年2月
92	長野 ♂	±	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	G ₇	中	46	2年
93	小川 ♀	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	G ₈	高	40	8年
94	野田 ♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(-)	軽	1	1年4月
95	木村 ♀	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	G ₂	中	52	5月
96	久米 ♀	+	+	+	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	G ₇	軽	18	1年3月
97	大石 ♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(-)	軽	37	4月
98	森口 ♀	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	G ₇	高	105	4年1月
99	城島 ♀	±	±	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	G ₆	高	67	4年2月
100	山下 ♂	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	(-)	軽	2	2年8月

Ⅲ. 肺結核患者血清の多糖類並びに蛋白体抗原による沈降反応

実験総数 100例の成績は、表3の如く、多糖類劃分によつて73例が陽性であつて、その抗原価の最高値を見ると、512,000倍を示したものは2例あり、次いで、256,000倍稀釈迄陽性を示したものは3例であつた。蛋白体抗原に於いては、100例中 84例が陽性であつて、その抗原価は最高51,200倍を示したものの1例、次いで、25,600倍を示したものは5例であり、その抗原価に於いては多糖類抗原が蛋白体抗原より遙かに強いことが

知られた。

Ⅳ. 喀痰排菌と沈降反応との關係

上記肺結核患者100例は、喀痰非排菌 49例と喀痰排菌51例から成るが、多糖類抗原による沈降反応の陽性率は(表4)、排菌陰性群は73.5%、同陽性群は 72.6%を示し、平均抗原価は結核菌陰性群に於いて18.775倍、同陽性群に於いて47.058倍であつて、結核菌陽性群が高度であると思われたが、しかし、推計学的には両群の間に有意の差を認められなかつた (F=2.83 < 3.95)。

表 4 喀痰排菌と多糖類抗原による沈降反応との關係

結 核 菌	抗 元 価	抗 元 価										合 計	陽 性 率 %	平 均 抗 元 価
		2000 以下	4000	8000	16000	32000	64000	128000	256000	512000				
陰	性	13	12	9	4	5	5	0	1	0	49	73.5	18.775	
陽	性	14	4	8	7	9	4	1	2	2	51	72.6	47.058	

蛋白体抗原による本反応の陽性率は(表5)、結核菌陰性群は 79.6%、同陽性群は 88.2%を示し、結核菌陽性群に稍々高い陽性率が窺われた。また、平均抗原価は、結核菌陰性群に於いて 4.685倍、同陽性群に

於いて 6.917倍であつて、結核菌陽性群に高いように思われた。しかし、推計学的に検討すると、両者の間に有意の差を認め得ない (F=1.85 < 3.95)。

表 5 喀痰排菌と蛋白体抗原による沈降反応との関係

結核菌	抗元価									陽性率 %	平均抗元価
	400以下	800	1600	3200	6400	12800	25600	51200	合計		
陰性	10	1	7	14	9	7	1	0	49	79.5	4.685
陽性	6	1	8	14	12	5	4	1	51	88.2	6.917

V. 赤血球沈降速度と沈降反応との関係

赤沈中等価と多糖類抗原による本反応の陽性率との関係を見ると(表6), 軽度促進群(16mm-30mm)は90.9%, 高度促進群(51mm以上)は73.5%, 正常値群(1mm-15mm)は71.9%, 中等度促進群(31mm-50mm)は65.2%を示した。平均抗元価は, 高度促進群の47.764倍, 軽度促進群の42.545倍, 中等度

促進群の30.782倍であつて, 正常値群の16.250倍の値が見られた。さらに, 推計学的に4群の間に5%の危険率で有意の差を認め(F=3.06>2.7), 一般に言つて, 沈降反応陽性率に於いては赤沈軽度促進群が優り, 平均抗元価に於いては赤沈高度促進群が優ることが知られた。

蛋白体抗原による本反応の陽性率と赤沈値との関係

表 6 肺結核患者の赤沈中等値と多糖類抗原による沈降反応との関係

赤沈値	抗元価									陽性率 %	平均抗元価	
	2000以下	4000	8000	16000	32000	64000	128000	256000	512000			合計
正常値(1-15mm)	9	10	6	3	2	1	0	1	0	32	71.9	16.250
軽度促進値(16-30mm)	1	1	4	1	1	2	0	1	0	11	90.9	42.545
中等度促進値(31-50mm)	8	1	4	2	4	2	1	1	0	23	65.2	30.782
高度促進値(51mm以上)	9	4	3	5	7	4	0	0	2	34	73.5	47.764

に於いては(表7), 中等度促進群91.3%, 軽度促進群90.9%, 高度促進群82.4%, 正常値群78.1%の順序が見られた。また, 平均抗元価は, 赤沈正常値(3.375倍), 軽度促進(5.090倍), 中等度促進(6.121倍), 高度促進(8.164倍)の順に漸次上昇を示し, 推

計学的に4群の間に5%の危険率で有意の差を認めた(F=3.08>2.7)。このように結核感染に於いて結核菌の多糖類と蛋白体との沈降素発生過程の異なることは生物学的に興味あることである。

表 7 肺結核患者の赤沈中等値と蛋白体抗原による沈降反応との関係

赤沈値	抗元価									陽性率 %	平均抗元価
	400以下	800	1600	3200	6400	12800	25600	51200	合計		
正常値(1-15mm)	7	1	7	8	7	2	0	0	32	78.1	3.375
軽度促進値(16-30mm)	1	0	3	2	3	2	0	0	11	90.9	5.090
中等度促進値(31-50mm)	2	0	2	9	7	1	2	0	23	91.3	6.121
高度促進値(51mm以上)	6	1	3	9	4	7	3	1	34	82.4	8.164

VI. 結核病勢進展度と沈降反応との関係

「レ」線所見をNTA分類に従い, 軽度進展群(29

例), 中等度進展群(47例), 高度進展群(24例)に分類して, 多糖類抗原による本反応の陽性率をみれば

表 8 肺結核患者の胸部「レ」線所見と多糖類抗原による沈降反応との関係

「レ」線 所見	抗元価										陽性率 %	平均 抗元価
	2000 以下	4000	8000	16000	32000	64000	128000	256000	512000	合計		
軽度進展	10	7	4	2	3	2	0	1	0	29	65.5	19.724
中等度進展	8	7	11	6	9	4	1	1	0	47	83.0	24.255
高度進展	9	2	2	3	2	3	0	1	2	24	62.5	45.666

(表8), それぞれ, 65.5%, 83.0%, 62.5%であるが, 平均抗元価は19.724倍, 24.255倍, 45.666倍という順に漸次上昇を示した。しかし, 推計学的に検討すると, 3群の間には有意の差を認めなかつた ($F=1.66<3.15$)。

蛋白体抗原による本反応の陽性率は(表9), それぞれ, 69.0%, 93.6%, 83.3%を示し, 推計学的に軽度進展群と中等度進展群との間に有意の差を認め ($\frac{M_1-M_2}{\sqrt{m_1^2+m_2^2}}=2.64>2$), 軽度進展群と中等度進展群・高度進展群の両者との陽性率の間に有意の差を認めた ($\frac{M_1-M_2}{\sqrt{m_1^2+m_2^2}}=2.23>2$)。平均抗元価は, それ

ぞれ, 3.310倍, 6.297倍, 7.933倍であつて, 病巣の大なるに従つて上昇を示し, しかも推計学的に3群の間に5%の危険率で有意の差を認めた ($F=7.05>3.1$)。以上観察したように, 沈降反応陽性率は中等度進展群が, また, 平均抗元価は高度進展群が稍々優つているのであつて, 蛋白体抗原では病巣進展度との並行関係が認められ, 多糖類抗原では一定の関係が見られないのは, 多糖類の抗元性が鋭敏に過ぎて, 「レ」像では識別されないような病巣の軽微な変化によつて抗体の消長が左右されるからであろう。

表 9 肺結核患者の胸部「レ」線所見と蛋白体抗原による沈降反応の関係

「レ」線 所見	抗元価									陽性率 %	平均 抗元価
	400 以下	800	1600	3200	6400	12800	25600	51200	合計		
軽度進展	9	0	4	8	6	2	0	0	29	69.0	3.310
中等度進展	3	2	8	14	9	8	3	0	47	93.6	6.297
高度進展	4	0	3	6	6	2	2	1	24	83.3	7.933

Ⅶ. 結核感染経過年数と沈降反応との関係

結核症発病後の経過年数と多糖類抗原による沈降反応の陽性率との関係を見ると(表10), 3年以上5年までの17例の陽性率は82.4%(14例)を示し, 次の

1年以内の24例の陽性率は75.0%(18例)を示し, 1年以上3年までの27例の陽性率は74.1%(20例)であり, 5年以上の32例の陽性率は65.6%(21例)であつた。また, 平均抗元価は, 3~5年の経過の群が

表 10 肺結核経過年数と多糖類抗原による沈降反応との関係

経過 年数	抗元価										陽性率 %	平均 抗元価
	2000 以下	4000	8000	16000	32000	64000	128000	256000	512000	合計		
1年以内	6	5	4	2	5	1	0	1	0	24	75.0	23.500
1~3年	7	6	6	5	1	1	0	1	0	27	74.1	18.666
3~5年	3	2	3	2	1	4	0	1	1	17	82.4	65.882
5年以上	11	3	4	2	7	3	1	0	1	32	65.6	35.375

65.882倍、次いで、5年以上経過の群が35.375倍、1年以内が23.500倍、1～3年までの18.666倍という順であつた。しかし、推計学的に検討すると、これら4群の間に有意の差を認めなかつた ($F=1.4<2.7$)。

結核経過年数と蛋白体抗原による本反応の陽性率との関係は(表11)、1年以内のもの87.5%、1年以上

3年までのもの81.5%、3年以上5年までのもの88.2%、5年以上のもの81.3%であつた。また、平均抗原価は、5年以上の7.300倍、3年～5年までの6.870倍、1年以内の5.200倍、1年～3年までの4.148倍であつて、推計学的に4群の間に有意の差を認めなかつた ($F=1.98<2.7$)。

表 11 肺結核経過年数と蛋白体抗原による沈降反応との関係

経過年数	抗原価									合計	陽性率 %	平均抗原価
	400以下	800	1600	3200	6400	12800	25600	51200				
1年以内	3	2	3	7	5	3	1	0	24	87.5	5.200	
1～3年	5	0	4	9	6	3	0	0	27	81.5	4.148	
3～5年	2	0	3	3	6	1	2	0	17	88.2	6.870	
5年以上	6	0	4	9	5	5	2	1	32	81.3	7.300	

考 案

第1報に於いて、人型結核菌ソートン・ツベルクリンによる肺結核患者血清の沈降反応を行い、結核症状と本反応発現との関聯性について報告したが、今回は、Boivinの三塩化醋酸法に略々準じて菌体多糖類並びに蛋白体を抽出して、それによる健康者血清及び肺結核患者血清の沈降反応を行い、両劃分の抗原性の比較を行うとともに、それらの肺結核各期に於ける抗体産生の状況を追求した。

多糖類抗原による健康者(成人)血清の沈降反応は、21例中、19例が抗原価2,000倍以下の陰性で、2例が抗原価4,000倍及び16,000倍の陽性を示した。また、蛋白体抗原による健康者血清の沈降反応は、21例中、14例が抗原価400倍以下の陰性で、7例が抗原価800倍以上12,800倍までの陽性を示した。“健康者”と言っても、潜在感染がないとは限らないので、厳格な意味の対照とは言えないと思われるが、感染している者が多少含まれているにしても、感染の初期を出ている筈はないのであつて、多糖類抗体より蛋白体抗体の方が感染早期に産生されるらしく考えられる。

多糖類抗原による患者血清の最高沈降価は、2例に於いて512,000倍を示し、3例に於いて256,000倍が見られた。中武(1943)は、Boivin法によつて人型、牛型、鳥型結核菌体の多糖類を抽出して、肺結核患者血清との沈降反応を行い、人型菌体多糖類では2,000,000倍、牛型及び鳥型菌体多糖類では400,000倍までの抗原価を認めており、著者の得た劃分は其処までは行かないが、戸田 & 村田(1938)のツベルクリ

ンから劃分した Polysaccharid-Stoff と結核菌免疫家兎血清との間の64,000倍までの抗原価よりは遙かに勝つている。しかし、大体に於いて、石井(1938)が人型結核菌並びに牛型結核菌体から抽出した特異沈降元性物質と結核菌死菌免疫家兎血清との間に得100,000乃至500,000倍及び100,000倍の抗原価に近似し、また、戸田(1942)がソートン・ツベルクリンから劃分した多糖類抗原と加熱死菌免疫家兎血清との間に見た250,000乃至600,000倍の抗原価と略々匹敵した。

蛋白体抗原による患者血清の最高沈降価は、1例に於いて51,200倍、5例に於いて25,600倍を示した。したがつて、この蛋白劃分による沈降元価は、波田(1952)の報告した機械的破砕菌から得た粗蛋白の結核家兎血清による25,000倍という抗原価に較べて勝るとも劣らない高い価を示し、中武(1943)の報告しているツベルクリン蛋白体の4,000倍の抗原価に較べても、戸田(1942)の述べる同劃分の1,000乃至2,000倍の抗原価に較べても、遙かに高いことを認め得たのであつて、結核菌蛋白劃分も相当高度の沈降元性を有するものと思われる。しかし、両劃分抗原による最高沈降価を比較すると、多糖類劃分が蛋白体劃分より格段に高度の抗原性を有することが知られる。

肺結核患者血清の多糖類抗原による沈降反応の陽性率は73%、蛋白体抗原による同反応では84%の陽性率を示し、両抗原の陽性率には若干の差が認められるけれども、“陽性”と判定する抗原稀釈の差異によるものであらうと思われる。喀痰結核菌陰性群と同陽性群との本反応の陽性率を観察すれば、多糖類抗原では排

菌の有無に関係はなく、蛋白質抗原では結核菌陽性群では同陰性群に比して稍々高度の陽性率が見られたが、推計学的に両者に有意の差を認めることができなかった。しかし、Sauton tuberculin を用いた第1報では、排菌者 90%、非排菌者 62%の沈降反応陽性率を示し、両者に明かに有意の差が認められたので、排菌者の反応が強いという傾向は認められるが、此处では非排菌者でも排菌者と有意の差のないほどの陽性率を示したのは、両割分抗原の反応元性が余りに鋭敏なために軽微な抗体の産生に対しても余りに忠実に反応するからであろうと考えられる。平均抗原価は、両抗原ともに、結核菌陽性群は同陰性群より高い値を示したが、推計学的には有意の差を認めなかった。

沈降反応と赤沈値との関係を見ると、多糖類抗原では軽度促進群の 90.9%が最高率で、中等度促進群が 65.2%の最低率を示し、蛋白質抗原でも軽度促進群が最高を占め、中等度促進群が第2位となり、正常値群と高度促進群が略々同率である点は両抗原とも同じであつた。要するに、沈降反応と赤沈値との平行関係は見られなかつたが、軽度促進群に本反応の出現が多いということは言えると思われる。平均抗原価は、両抗原ともに、正常値群に於いては他群に比して低く、他方、高度促進群に於いては他群より稍々高いのであつて、それは推計学的に有意の差を認めた。

胸部「レ」線所見と本反応の陽性率との関係に就いては、中等度進展群に於いて、多糖類抗原で 83.0%、蛋白質抗原では 93.6%の陽性率を示し、他群に比して稍々高く、少なくとも、高度進展群の 62.5%並びに 83.3%に較べて高率にあらわれている。このことは高度進展群の中には反応力の低下した患者が含まれているからであろうと考えられる。全般的に見て、多糖類抗原では 3 群の間には推計学的に平行関係は認めることができなかったが、蛋白質抗原では軽度進展群と中等度進展群並びに高度進展群の 2 群との間に陽性率の有意の差が見られ、病巣の小なるほど陽性率が低いという傾向が窺われた。一方、平均抗原価は、両抗原ともに、軽度進展、中等度進展、高度進展の順に漸次高く現われ、特に蛋白質抗原では推計学的に有意の差が認められた。なお、両抗原の最高抗原価 512.000 倍及び 51.200 倍は、「レ」線所見の高度進展を示した患者だけに見られた。

肺結核発病後の経過年数と本反応の陽性率並びに平均抗原価の関係は、発病後 1 年以内、1～3 年まで、3～5 年まで、並びに、5 年以上の 4 群に別けて観察しても、特定の関係は認められない。勿論、経過年数

と病巣の変化が数量的に並行するわけではないから、これは当然の結果であろうと考えられる。たゞ、多糖類抗原の成績を見ると、5 年以上経過の群に於いては 65.6%の陽性率で、他群に比して低率を示したが、これは、Herrmann (1958) の説の如く、病巣の限局化のために抗原が体液中に出なくなつて来たためであるか、或は、抗体を中和する抗抗体 (anti-antibody) の産生のためであるか、俄には断じ難いが、とにかく、結核発症後長く経過すれば陽性率が低くなるということは言えるかもしれないし、このようなところに慢性経過を執る結核症の血清診断が役立たない理由がないだろうかと思われる。

概 括

人型結核菌青山株から抽出した多糖類並びに蛋白質を抗原として、健康者血清並びに肺結核各期の患者血清の沈降反応を行い、次の成績を得た。

1) 結核菌抽出物質に対する健康者 21 例の沈降反応は、多糖類抗原 (1:4.0000 以上) では 10%、蛋白質抗原 (1:800 以上) では 32%の稍々高い陽性率を示したが、「健康者」の中でも潜在感染又は初期感染の者が含まれていなかったとは言えない。

2) 肺結核患者 100 例の本反応は、多糖類抗原で 73%、蛋白質抗原で 84%の陽性率を示し、その抗原価の最高は、多糖類で 512.000 倍、蛋白質で 51.200 倍であつた。

3) 肺結核患者の喀痰排菌の陽性又は陰性の沈降反応との関係は、多糖類抗原では格別の差は見られないが、蛋白質抗原では排菌陽性群が 88.2%で、同陰性群の 79.6%より稍々高率を示した。平均抗原価は、多糖類、蛋白質両抗原に於いて、排菌陽性群では 47.058 倍及び 6.917 倍であつて、同陰性群の 18.775 倍及び 4.658 倍より高い値を示したが、推計学的に有意の差は認められなかつた。

4) 赤沈値と本反応との関係は、軽度促進群に多糖類及び蛋白質の両抗原ともに陽性率が 90.9%及び 90.9%、平均抗原価は両抗原ともに正常値群は他群に比して低く (16.250 倍及び 3.375 倍)、他方、高度促進群は他群よりやゝ高い値を示し (47.764 倍及び 8.164 倍)、推計学的に有意の差を認めた。

5) 胸部「レ」線所見と両抗原による沈降反応との関係は、多糖類抗原では病巣の広さと本反応とは關聯性が見られなかつたが、蛋白質抗原では軽度進展群 (69.0%) と中等度進展群 (93.6%) 及び高度進展群 (83.3%) との間に有意の差が認められ、病巣の小な

る程陽性率が低いという傾向が窺われた。平均抗元価は、両抗元ともに病巣の大なるにつれて漸次上昇し、多糖類抗元では推計学的に有意の差はなかつたが、蛋白体抗元では病巣の拡がりに従つて、3.310倍、6.297倍、7.933倍と上昇し、各群に有意の差を認めた。

6) 肺結核発病後の経過年数と沈降反応との関係は、多糖類抗元で5年以上経過の群の陽性率が低率

(65.6%)であつた外、特定の関係は見られなかつた。

擱筆するにあたり、終始御懇篤な御指導、御鞭撻並びに御校閲を賜つた恩師登倉教授に対して深甚なる感謝の意を表するとともに、種々御高配を賜つた後藤正彦博士に感謝致します。

参 考 文 献

- [1] 秋山舜一：結核免疫に関する研究。第Ⅲ報：人型結核菌々体磷脂質及び多糖類の免疫学的性状に関する研究。第3編：人型結核菌々体磷脂質及び多糖類の抗原性及び免疫原性に就て。金沢大学結核研究所年報，10（下）：147-182，1952。
- [2] Doan, C. A. : M. Clin. North America, 14 : 129, 1930 ; New England J. Med. 203 : 860, 1930 ; J. exp. Med. 52 (Suppl.) : 3, 1930.
- [3] Hada, Y. : Studies on tubercular precipitin test. VII. Precipitin-combining activities of proteins and lipids isolated from mechanically disintegrated tubercle bacilli. Annals of Tuberculosis 3 (2) : 66-71, 1952.
- [4] Haworth, Kent & Stacey : J. Chem. Soc. 1220 : 1948. (山村雄一：結核菌の生化学，61，東京，1955 より引用)
- [5] Heidelberger, M. & Menzel, A. E. O. : Specific and non-specific cell polysaccharides of the human type of tubercle bacillus, H₃₇. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 29 : 631 - 633, 1932.
- [6] Herrmann, W. : Hat die heutige Serodiagnosik der Tuberkulose praktische klinische Bedeutung? Tbkarzt. 12 (2) : 69-73, 1958. (結核文献速報，9 (6) : 91599，東京，1958 より引用)
- [7] Hooper, F. E., Renfrew, A. G. & Johnson, T. B. : Studies on the complex carbohydrate isolated from the culture medium and its ultrafiltrate after the growth of tubercle bacilli. The Chemical Study of Bacteria, 66 - 72, New Haven, 1930.
- [8] Inoue, T. : Antituberculo-protein precipitin in patients with pulmonary tuberculosis. Annals of Tuberculosis, 2 (2) : 49-56, 1951.
- [9] 石井 確：人型並に牛型結核菌より沈降元性及びツベルクリン作用を有する物質の抽出に就て（予報）。東京医事新誌，62 (3076) : 67, 1938；人型牛型結核菌及びBCG菌々体より抽出せる沈降元性並びに「ツベルクリン」作用を有する物質に就て。実験医学会雑誌，24 (9) : 1161-1171, 1940；牛型結核菌菌体より抽出せる有効成分殊に沈降元性物質と皮膚反応物質の分離に就て。実験医学会雑誌，24 (9) : 1172-1183, 1940.
- [10] 桑島謙夫：Tuberkulinノ有効成分ノ分離ニ就テ（第1報）。実験医学会雑誌，24 : 160-180, 1939.
- [11] Laidlaw, P. P. & Dudley, H. W. : A specific precipitating substance from tubercle bacilli. Brit. J. exp. Path. 6 : 197-201, 1925.
- [12] Ludewig, St. & Anderson, R. J. : Über Polysaccharide in Tuberkelbazillen. Z. Phy. Chem. 211 : 103-110, 1932.
- [13] Masucci, P., McAlpine, K. L. & Glenn, J. T. : Biochemical studies of bacterial derivatives. XII. The preparation of human tubercle bacillus polysaccharide MB-200 and some of its biological properties. Am. Rev. Tuberc. 22 : 669-677, 1930/31.
- [14] Mueller, J. H. : A Chemical study of the specific elements of tuberculin. I. J. exp. Med. 43 : 1-8, 1925；II. The preparation of residue antigen from old tuberculin. J. exp. Med. 43 : 9-12, 1925.
- [15] 村田正夫：ツベルクリンに関する研究（第二報）。第二編：「ツベルクリン」及各劃分の抗元性に関する実験。結核，17 (2) =174-208, 1939.

- [16] 中武二良：結核菌ノ多糖類ニ関スル研究。第1編：結核菌体多糖類ヲ以テセル結核患者血清ニ対スル沈降反応竝ニ皮内反応ニ就テ。熊本医学会雑誌，19：1062-1079，1943；結核菌ノ多糖類ニ関スル研究。第2編：結核菌体多糖類及「ツベルクリン」多糖類ノ皮膚反応及ビ沈降反応物質ニ就テ。熊本医学会雑誌，19：1080-1089，1943。
- [17] 小田俊見：肺結核に於ける沈降反応。第1報：人型結核菌ソートン・ツベルクリンによる沈降反応。長崎医学会雑誌，33（11）（増刊号）：1-12，1958。
- [18] 太田 正：内科領域に於ける結核沈降反応に関する研究。京都府立医科大学雑誌，60（4），769-770，1956。
- [19] Renfrew, A. G. : The chemical study of bacteria. The presence of d-mannose and d-arabinose in a complex carbohydrate isolated from the culture medium after the growth of tubercle bacilli. *J. Biol. Chem.* **89** : 619-626, 1930.
- [20] Seibert, F. B. : The isolation of three different proteins and two polysaccharides from tuberculin by alcohol fractionation. Their chemical and biological properties. *Am. Rev. Tuberc.* **59** : 86-101, 1949.
- [21] Seibert, F. B., Stacey, M. & Kent, P. W. : *Biochim. Biophys. Acta.* **3** : 632, 1949. (山村雄一：結核菌の生化学，61，東京，1955より引用)
- [22] 塩沢富美子：人型結核菌より分離せる一多糖体の生物学的作用に就いて。臨床，5（7）：677-678，1952。
- [23] Takeda, Y., Ohta, T. & Sato, M. : Ueber die biologische Wirkung der Azetylpolysaccharide aus humanen Tuberkelbazillen. *Z. ImmForsch. u. exper. Therap.* **96** : 326-334, 1939.
- [24] Tennent, D. M. & Watson, D. W. : Molecular kinetic analysis and serological specificities of polysaccharides isolated from filtrates of the human tubercle bacillus and related species. *J. Immunol.* **45** : 179-186, 1942.
- [25] 戸田忠雄：「ツベルクリン」及び結核「アレルギー」の検討。結核，20（上）：111-153，1942。
- [26] 戸田忠雄，村田正夫：ツベルクリンの有効因子に関する研究。其の二：各劃分の抗性に就いて。東京医事新誌，62（3114）：1-3，1938。
- [27] Zinsser, H. M. D. : Studies on the tuberculin reaction and on specific hypersensitiveness in bacterial injection. *J. exp. Med.* **34** : 495-523, 1921.
- [28] Zinsser, H. M. D. & Mueller, J. H. : On the nature of bacterial allergies. *J. exp. Med.* **41** : 159-177, 1925.
- [29] Zinsser, H. M. D. & Parker, J. T. : Further studies on bacterial hypersusceptibility. *J. exp. Med.* **37** : 275, 1923.
- [30] Zinsser, H. M. D. & Tamiya, T. : Studies on the antigenic substance of the bacterial cell. *J. exp. Med.* **42** : 311-321, 1925.

Summary

This report deals with observations on the precipitin reaction of sera from tuberculosis patients in several stages to polysaccharide and protein fractions liberated by means of BOVX and M SROBEAN.'s method, somewhat modified, from human tubercle bacilli.

The results obtained were summarized as follows :

1) Among 21 cases of healthy people, the test was positive at 10% by the polysaccharide fraction in dilution of 1 : 4,000 and over, and was positive at 32% by the protein fraction in dilution of 1 : 800 and over. Although this incidence appeared too high, it must be remembered that the "healthy", independently of their appearance, might not always be free from any early or latent tuberculosis.

2) On the other hand, with respect to 100 cases of patients suffering from

pulmonary tuberculosis, a positive test was obtained at 73% with the polysaccharide fraction, showing the highest precipitinogen titre of 1 : 512,000, and at 84% with the protein fraction, showing the highest precipitinogen titre of 1 : 51,200.

3) When the results were analyzed separately in both groups of individuals discharging and not discharging tubercle bacilli in the sputum, the test was positive with the protein fraction at 88.2% in the bacillus-positive group and at 79.6% in the bacillus-negative group, while there was few difference between the both groups in the test with the polysaccharide fraction. The precipitinogen titre, being averaged, was 1 : 47,058 in the bacillus-positive group and 1 : 18,775 in the bacillus-negative group in the test with the polysaccharide fraction, and was 1 : 6,917 and 1 : 4,685 with the protein fraction. But, in this respect, there was no significant difference between the both groups according to the small sampling theory.

4) Concerning the relation of the test to different erythrocyte sedimentation rates : less than 16mm (normal), from 16 to 30mm, from 31 to 50mm and more than 50mm, the highest incidence of a positive reaction by the polysaccharide and protein fractions was seen separately at 90.9% and 90.9% in the second group. The mean precipitinogen titre, however, was lowest in the first group (1 : 16,000 and 1 : 3,375), and was highest in the last group (1 : 47,764 and 1 : 8,164), showing a significant difference among the last group and others.

5) There was little linear relationship of the test by the polysaccharide fraction to the roentgenogram picture of pulmonary tuberculosis. But, in the test with the protein fraction, the incidence of a positive reaction was 69.0% in minimal cases, 93.6% in moderately advanced cases and 83.3% in far advanced cases, which showed a significant difference among the first group and others. Furthermore, it was found that the test showed a rising tendency in the precipitinogen titre, ranging from 1 : 3,310 to 1 : 6,297 and 1 : 7,933 on the average in each stage, in proportion to the advance of foci of disease. There was a significant difference to be seen among the three groups. (Tokura, N.)