

結核菌の免疫学的性状に及ぼす亜硝酸の 影響について

第 4 報

諸株結核菌の亜硝酸殺菌ワクチンの 免疫効力比較実験

金沢大学結核研究所薬理製剤部（主任：伊藤亮教授）

吉	村	政	弘
青	木	康	三
宮	本	乙	男
佐	々	恵	一

（受付：昭和36年2月16日）

緒 言

さきに吉村¹⁾によつて，“強毒人型結核菌を硝酸（NA）で処置して得られる死菌ワクチン（以下NA菌ワクチンと称す）がモルモットの結核感染に対してBCG生菌ワクチンに比して優るとも劣らない程の免疫効果を發揮する、”ことが実証された。この実証にもとづいて、一方では結核菌の免疫活性因子の本態究明という基礎的見地から、他方またNA菌ワクチンの実用化の問題とも関連して、NA菌ワクチンの免疫活性性及びその諸種因子の影響について考査研究が進められてきており、今までにNA処置

時間の長短や結核菌培養の老若度とNA菌ワクチンの免疫効力との関係について検索が行なわれた。^{1,2)}

ところでNA菌に関する前回までの実験報告は、専ら強毒人型結核菌H₂株を対象としたものであるが、周知の如く、一般に細菌は菌株によつてその生物学的性状にしばしば著しい相違を示すことがあるので、著者等は今回、型類や毒力の違つたいろいろの結核菌について、夫々のNA菌ワクチンの、モルモットに対する免疫効力を相互に比較検討した。

実 験 方 法

1. 菌株。亜硝酸殺菌ワクチンには次の7株の結核菌を用いた。

(a) 人型；H₂、青山B、Frankfurt、H37、H37Rv、H37Ra

(b) 牛型；No. 10.

また免疫試験の対照ワクチンとしてBCG菌を用いた。これらは何れも当研究室の保存菌株である。使用

した培地はSauton培地である。

2. ワクチン調製。

(a) 亜硝酸殺菌ワクチン。上記7株の結核菌のうち下記の第I実験に使用した菌株では3週間培養、また第II実験使用のものでは4週間培養からそれぞれ菌体を採集した。各菌体の一定量に対して、前報告²⁾と全く同様にして、無菌的注意のもとで、酢酸緩衝液

(pH4.1—4.2) 中・氷冷下で8時間NA処置を行った。かくして得られたNA処置菌を食塩水をもつて菌濃度1mg/mlの浮游液とし、これをNA菌ワクチンとして用いた。

なお、免疫試験に用いたすべてのNA菌ワクチンは、小川培地による塗抹培養試験によって、ワクチン中に生菌の絶無なることが確認された。

(b) BCG ワクチン、9日間培養のBCG菌を乳鉢で磨碎し、食塩水に1mg/mlに浮游したものをBCGワクチンとした。

3. 免疫試験。免疫実験は2回に分けて行われた。各回実験には、1群7匹からなる6群の健常雄モルモット(300—360gm)を用意し、その中4群はNA菌ワクチン接種動物群、また1群はBCGワクチン接種動物群とし、残りの1群はワクチン非接種の対照群とした。

各回実験の動物群とワクチンの組み合わせは次の如くである。

第1実験：

第1群 NA—H37 菌ワクチン

第2群 NA—H37Rv 菌ワクチン

第3群 NA—H37Ra 菌ワクチン

第4群 NA—H₂ 菌ワクチン

第5群 BCG ワクチン

第6群 非接種 (対照)

第II実験：

第7群 NA—青山B菌ワクチン

第8群 NA—牛No.10菌ワクチン

第9群 NA—Frankfurt 菌ワクチン

第10群 NA—H₂ 菌ワクチン

第11群 BCG ワクチン

第12群 非接種 (対照)

各ワクチン1ml(1mg菌量)を1回動物の腹腔内に注射してワクチン接種を行った。ワクチン接種後1月目に対照群をも含めた全群動物に一斉に強毒人型結核菌 H₂0.1mg(3週間培養より採集したもの)を左肩胛部に皮下注射して結核感染を行った。感染後2月目に残存動物全部を致死せしめ、各動物の内臓における結核侵襲状態を剖検し、その成績をFeldman方式⁹⁾に従って記録した。

実 験 成 績

第1及び第2表は夫々前記第I及び第II免疫実験の成績を示したものである。

各動物群の結核侵襲の程度を平均総指数によつて示せば次の如くである。即ち非接種(対照)群の77.7(第I実験)及び77.3(第II実験)に対し、NA—H₂菌ワクチン群39.3及び37.3、またBCG群42.3及び42.2という価を示した。他方H₂以外の菌株では、NA—H37菌ワクチン群59.7、NA—H37Rv菌ワクチン群65.8、NA—H37Ra菌ワクチン群62.9(以上第I実験)、NA—青山B菌ワクチン群56.3、NA—牛No.10菌ワクチン群59.5、NA—Frankfurt菌ワクチン群62.6(以上第II実験)という成績であつた。

また一方各群の平均脾重量は、NA—H₂菌ワクチン群1.5gm、NA—H37菌ワクチン群2.1gm、NA—H37Rv菌ワクチン群2.5gm、NA—H37Ra菌ワクチン群2.6gm、BCGワクチン群1.6gm、非接種群3.6gm、(以上第I実験)であり、NA—H₂菌ワクチン群1.4gm、NA—青山B菌ワ

クチン群3.1gm、NA—牛No.10菌ワクチン群3.6gm、NA—Frankfurt菌ワクチン群3.1gm、BCGワクチン群1.9gm、非接種群3.3gm(以上第II実験)であつて、Feldman指数と略々同様の関係を示した。

以上の成績から、本研究の主要成果として次の諸事項を挙げる事ができる。

1) NA—H₂菌ワクチン接種動物群における結核侵襲が他群よりも断然軽症であつた。

2) 強毒株H37Rvとその変異種である弱毒株H37Raとでは、NA菌ワクチンの免疫活力において有意な差異が認められなかつた。

3) 牛型結核菌No.10株のNA菌ワクチンが、H37Rv、青山B、Frankfurt株の如き人型結核菌のNA菌ワクチンと同程度の免疫効力を示した。

ここで最も注目されるのは、H₂株が、NA殺菌ワクチンのモルモットに対する免疫活性において、他菌株より卓越した効果(その効果は、

すでに前回までの報告で反復実証された如く、BCGワクチンよりも優る)を發揮したということである。しかし、この NA-H₂ 菌ワクチンの独占的優越性に対しては、NA 菌ワクチン調

製条件が既報の如く H₂ 株を対象として吟味決定されたものであること、更にまた本実験では結核感染が H₂ 株をもつて行なわれたこと等の特殊事情をも一応考慮する必要がある。

結

人型結核菌 6 株 (H₂, H37, H37Rv, H37Ra, 青山B, Frankfurt) と牛型結核菌 1 株 (牛型 No. 10), 合計 7 株の結核菌について、各菌株を亜硝酸処置法によつて殺菌して得られたワクチンのモルモットの結核感染 (人型 H₂ 接種) に対する免疫効力を、BCG 生菌ワクチンを対照として比較実験して次の成績を得た。

1. 被検亜硝酸殺菌 ワクチンのうち、H₂ 株

文

- 1) Yoshimura, M.: Japan. J. Tuberc., 4, 145, 1956.
- 2) 吉村政弘, 他: 金大結研年報,

論

ワクチンが動物の感染防禦力を増強せしめるのに最も有効であつて、而もその免疫効力は BCG ワクチンよりも稍々まさるものがあつた。

その他の菌株のワクチンの免疫効力は、BCG ワクチンよりかなり劣つていた。

2. 強毒株 (H37Rv) とその変異弱毒株 (H37Ra) とでは、亜硝酸殺菌ワクチンの免疫効力に殆んど差がなかつた。

献

- 18 (上), 1961.
- 3) Feldman, W. H.: Amer. Rev. Tuberc., 48, 248, 1943.

Table 1 Comparison of resistance established in guinea pigs with
nitrous acid-killed vaccines of H37, H37Rv, H37Ra,
and H₂ and with living BCG vaccine
(Experiment 1)

Group No.	Vaccine	Guinea pig No.	Weight of Spleen (gm)	Feldman index (F.I.) by gross examination of organs				
				Inguinal Lymph nodes of the site of infection	Spleen	Lungs	Liver	Total F. I.
1	NA-treated H37	1	1.0	3	7	12	20	32
		3	1.0	6	14	6	20	46
		4	2.6	2.5	35	18	25	80.5
		5	3.8	7	35	18	10	80
		Average	2.1	4.6	22.8	13.5	18.8	59.7
2	NA-treated H37Rv	8	3.8	7	35	18	25	85
		9	3.0	4.5	31.5	18	17.5	71.5
		11	2.6	8.5	35	12	10	65.5
		12	2.1	9	21	12	15	57
		13	1.2	3.5	3.5	18	25	50
Average	2.5	6.5	25.2	15.6	18.5	65.8		
3	NA-treated H37Ra	15	2.2	5.5	14	18	25	62.5
		16	3.0	4.5	35	24	15	78.5
		18	1.5	4.5	7	6	20	37.5
		19	3.8	5	28	24	15	72
		Average	2.6	4.9	21	18	19	62.9
4	NA-treated H ₂	22	1.6	4	10.5	12	2.5	29
		23	1.7	4	10.5	9	2.5	26
		24	1.3	5	17.5	12	5	39.5
		25	2.3	5	28	24	15	72
		26	1.1	5	7	12	5	29
		27	1.0	2	3.5	6	2.5	14
		28	1.7	7	31.5	12	15	65.5
		Average	1.5	4.6	15.5	12.4	6.8	39.3
5	Living BCG	29	1.2	3	7	9	10	29
		30	2.2	7	28	12	10	57
		32	1.0	6	10.5	6	5	27.5
		33	1.6	8	10.5	12	2.5	33
		34	2.2	7	25	18	15	65
		Average	1.6	6.2	16.2	11.4	8.5	42.3
6	Nonvaccinated (control)	36	1.3	3	21	24	25	73
		37	2.7	7.5	31.5	27	25	91
		38	2.4	3	7	27	25	62
		39	8.5	6	35	30	25	96
		40	1.7	4	14	18	20	56
		41	5.2	4.5	35	24	25	88.5
		Average	3.6	4.7	24	25	24	77.7

Table 2 Comparison of resistance established in guinea pigs with nitrous acid-killed vaccines of Aoyama B, Frankfurt, Bovine No. 10, and H₂, and with Living BCG vaccine (Experiment 2)

Group No.	Vaccine	Guinea pig No.	Weight of Spleen (gm)	Feldman index (F.I.) by gross examination of organs				
				Inguinal Lymph nodes of the site of infection	Spleen	Lungs	Liver	Total F. I.
7	NA-treated Aoyama B	1	3.8	4.5	35	9	5	53.5
		2	4.6	5	35	6	10	56
		3	2.4	4.5	24.5	15	12.5	56.5
		4	1.6	6	31.5	15	12.5	65
		5	3.2	4.5	35	6	5	50.5
		Average	3.1	4.9	32.2	10.2	9	56.3
8	NA-treated Bovine No.10	6	4.2	1	35	15	17.5	68.5
		8	2.8	3	24.5	6	5	38.5
		9	3.7	6.5	35	21	12.5	75
		10	3.5	3	28	12	12.5	55.5
		Average	3.6	3.5	30.6	13.5	11.9	59.5
9	NA-treated Frankfurt	11	3.4	9	35	21	12.5	77.5
		12	4.1	7.5	35	15	20	77.5
		13	2.0	3	35	9	12.5	59.5
		14	1.2	7	24.5	6	5	42.5
		15	4.7	4.5	35	9	7.5	56
		Average	3.1	6.2	32.9	12	11.5	62.6
10	NA-treated H ₂	16	1.5	7.5	14	6	5	32.5
		17	1.2	9	7	12	5	33
		18	1.4	8	7	6	12.5	33.5
		19	1.3	7	7	12	5	31
		20	1.6	9	28	12	7.5	56.5
		Average	1.4	8.1	12.6	9.6	7	37.3
11	Living BCG	21	1.4	4.5	14	6	5	29.5
		22	1.4	10	14	6	5	35
		23	2.2	6	28	15	15	64
		24	3.4	4.5	14	12	17.5	48
		25	1.4	7	14	6	7.5	34.5
		Average	1.9	6.4	16.8	9	10	42.2
12	Nonvaccinated control	26	4.7	4	35	24	25	88
		27	2.3	4.5	35	27	15	81.5
		28	2.9	5	28	12	20	65
		29	4.0	4	35	24	20	83
		30	2.5	5	28	21	15	69
		Average	3.3	4.5	32.2	21.6	19	77.3