

# 新生時 BCG 死菌の投与を受けたウサギの ツベルクリン感受性と血中 抗体産生能について\*

金沢大学結核研究所病態生理部 (主任: 西東利男教授)

小 西 健 一

金沢大学結核研究所薬理部 (主任: 伊藤 亮教授)

吉 村 政 弘

(受付: 昭和38年10月3日)

## 緒 言

1953年 Medawar ら<sup>1)</sup> はマウスにおいて人工的に皮膚キメラ現象を現出させることに成功して以来、この現象の成立機序に関する多くの研究が行われた結果、その背景には acquired immunological tolerance (以下 immunological tolerance 又は単に tolerance) と名付けられる現象の存在することが明らかとなり、この tolerance という新しい現象が各種の抗原と動物の関係において追求され、その本態も次第に解明されつゝあることは周知のところである。

しかしながら、今日なお菌体あるいはそれに由来する抗原物質を用いて tolerance を検討したものはそれほど多くはない。すなわち、

Weiss<sup>2)</sup> はモルモットを用い OT および BCG 死菌の胎生時注射によってツベルクリン (以下「ツ」) 皮膚感受性の発現が抑制されることを報告し、Sterzl & Trnka<sup>3)</sup> はウサギを用いて実験し、S. paratyphi B の生直後大量注射によって抗体産生が抑制されることを認めているなどにすぎない。

そこで私達はウサギを用い、まず出生直後における BCG 死菌の注射が成熟後における「ツ」感受性および血中抗体産生に影響を及ぼすか否かについて検索した。このことはまた結核における免疫とアレルギー関係解明の一助ともなるものと考えられる。以下はその成績の概要である。

## 実験材料ならびに実験方法

### 1) 動 物

白色健常ウサギを交配して得られた子ウサギを、出生直後より使用に供した。

### 2) 菌株および抗原

a) 菌株: BCG 予研株およびヒト型結核菌 H<sub>37</sub>Rv 株の2株より次の抗原を作製した。

1) BCG死菌浮遊液: Sauton 培地 8週間培養後熱殺、濾別し、洗浄、乾燥した菌体を保存し、用

にのぞんで 0.5mg/ml (乾燥菌重量) に生理的食塩水 (以下生食水と略記) に浮遊した。

ロ) BCG生菌浮遊液: Sauton 培地 2週間培養の菌体を取り、濾紙で除湿後秤量して、10mg/ml (生菌数  $7 \times 10^8$ /ml) および 1mg/ml に生食水に浮遊した。

b) OT: 2株の Sauton 培地 8週間培養濾液より型のごとくにして OT を作製した。以下それぞれ OT-

\* 本論文の要旨は昭和36年6月4日、第7回日本結核病学会北陸地方会において発表した。

BCG および OT-H<sub>37</sub>Rv と記載する。

### 3) neonatal injection

ウサギの出生後10時間目より前記BCG死菌浮遊液を0.2ml(乾燥死菌重量0.1mg)あて腹腔内に毎日21日間注射した。

### 4) BCG接種

生後20~22週のウサギの背部正中皮内に10mg/ml又は1mg/mlのBCG生菌生食水浮遊液を0.1mlあて注射した(接種菌量1mg又は0.1mg)。

### 5) 皮膚反応

OT-BCGの10倍希釈液およびOT-H<sub>37</sub>Rvの50倍希釈液(この両者の希釈液はほぼ等力価)を0.1mgあて、ウサギのあらかじめ除毛した両側背部皮内に注射し、48時間後に発赤径を測定した。判定は型のごと

く、発赤径の平均が5mm未満を陰性、5mm以上10mm未満を疑陽性、10mm以上を陽性とした。

### 6) 血中抗体価の測定

OT感作血球凝集反応および同溶血反応を西東ら<sup>4)</sup>の記載に準じて行った。血球感作原としてはOT-BCGおよびOT-H<sub>37</sub>Rvを用いた。

### 7) 実験群の組合けと実験の概要

neonatal injectionを行った群と出生直後無処置に放置した群とに大別し、前者は生後158日目に、後者は生後約140日目に、両群を更に2分して、一方にはBCG生菌1mgを、他方には0.1mgを接種した。

皮膚反応はBCG接種前および接種後2週ごとに観察し、血中抗体価はBCG接種前および接種後1週おきに測定した。

## 実験成績

### 1) 皮膚反応の成績(第1表)

出生直後よりBCG死菌を0.1mgあて21日間注射されたウサギ6羽に、生後155日目にOT-BCGおよびOT-H<sub>37</sub>Rvによる「ツ」皮膚反応試験を行ったが、生後無処置の4羽と同様すべて陰性であった。

BCG接種4週後では、新生時処置群6羽中5羽が陽性、BCG0.1mg接種の1例のみ疑陽性の反応を示した。新生時無処置群は4例とも陽性であった。発赤径について比較すると、新生時処置群の発赤径が新生時無処置群のそれより劣ることが観察され、特にOT-BCGによる皮膚反応においてこの傾向が著しかった。いうまでもなく新生時処置の有無にかかわらずBCG1mg接種群の平均発赤径は0.1mg接種群のそれより大であった。

### 2) 血中抗体価について(第2表)

新生時処置群および無処置群ともBCG接種4日前の血清はすべてOT-BCG感作血球凝集ならびに溶血反応、OT-H<sub>37</sub>Rv感作血球凝集ならびに溶血反応を示さなかった。

BCG接種4週後、新生時無処置群の両OT感作血球凝集価は1:32~128であったが、新生時処置群のそれは1:2~16であってpartial toleranceであることを示している。

両OT感作血球溶血価について比較すると、新生時処置群中BCG1mg接種の1例(No.41)が1:32、BCG0.1mg接種の1例が1:4~8であって、残りの4例はBCG0.1mgあるいは1mg接種のものも<1:2であった。これに反して新生時無処置群では1:32~128の溶血価を示した。

## 考

今日 immunological tolerance に関する研究の多くは哺乳動物の血清蛋白や細胞成分についてであって、結核菌体あるいはその蛋白に関する報告はきわめて少なく、モルモットの胎生期間中にOTやBCG死菌を注射し、成熟後BCGを接種して「ツ」感受性の発現状況を観察したWeiss<sup>2)</sup>の報告をみるにすぎない。氏は胎生時OTの注射を受けたモルモットは

## 案

tuberculin tolerant になるが、胎生時BCG死菌の投与を受けたモルモットでは「ツ」感受性の低下したものがきわめて少なかったと述べている。

私達は生直後より21日間BCG加熱死菌の注射(総量2.1mg)を受け、生後155日目にBCG生菌を1mg又は0.1mg接種されたウサギの「ツ」感受性ならびに血中抗体産生能を検し、

新生時無処置で成熟後 BCG 生菌の接種のみを受けたウサギ（対照群）のそれと比較考察した。

「ツ」感受性は新生時処置群では対照群に比して一般に低下している傾向を認めたが、BCG 接種 4 週後において両群中陰性であったものは 1 例もなく、新生時処置群の 1 例のみが疑陽性であった。このことは前処置の時期に新生時と胎生時との差はあるが、おおむね Weiss の報告と一致するものと考えられる。

次に OT 感作血球凝集価についてみると、新生時処置群では対照群より抗体価が低く、明らかに partial tolerance であることを示している。OT 感作血球溶血価については、新生時処置群のうちの 1 例 (No. 41) が対照群に近似

する抗体価を示し、他の 1 例は対照群より低く、残りの 4 例は  $< 1:2$  であった。

以上の成績から、No. 41 のウサギを除く新生時処置群は血中抗体産生の面で partial tolerance であることは明らかであり、皮膚反応の面でも対照のものに比べて劣るのではないかと推定されるところから、tolerance injection の量、challenge injection の量および時期を選択することによって、「ツ」感受性の上でも tolerance を招来しうる可能性が残されているとも考えられる。更にも、このような状態の動物が毒力菌の感染に対してどのような抵抗を示すかはきわめて興味深いところであるので、今後検討を加えるつもりである。

## 結

出生直後より BCG 死菌を連日 0.1mg あて 21 回注射したウサギに生後 155 日目に BCG 生菌を 1 mg 又は 0.1mg 接種し、「ツ」感受性および血中抗体価 (OT 感作血球凝集価ならびに同溶血価) について観察した。その結果 BCG

## 文

- 1) Billingham, R. E., Brent, L. and Medawar, P. B.: Nature, 172, 603, 1953.
- 2) Weiss, D. W.: J. Exp. Med., 108, 83, 1958.

## 論

生菌接種 1 カ月後に行われた「ツ」皮膚試験は「ツ」感受性発現が軽度ながら抑制されていることを示しており、血中抗体の検索ではその明らかな産生低下が認められた。

## 献

- 3) Sterzl, J. and Trnka, Z.: Nature, 179, 918, 1957.
- 4) Saito, T. et al.: Jap. J. Tuberc., 3, 75, 1955.

Table 1  
Tuberculin skin tests of rabbits injected neonatally with heat-killed BCG  
and challenged later with living BCG

Neonatal injection		Challenge injection			Rabbit No.	Tuberculin skin tests			
Antigen	Duration	Time	Antigen	Dose		3 days before challenge injection	4 weeks after challenge injection		
						Average diameter of erythema 48 hours after injection of			
						OT-BCG*	OT-H <sub>37</sub> Rv*	OT-BCG*	OT-H <sub>37</sub> Rv*
0.1 mg of heat-killed BCG (total 2.1 mg)	21 days following birth	the 158th day after birth	Living BCG	1.0mg	41	0 mm	0 mm	13.5 mm	19.0 mm
					42	0	0	12.5	14.0
					43	0	0	21.0	22.0
					Average	0	0	15.7	18.3
				0.1mg	44	0	0	16.0	16.5
					45	0	0	16.5	18.0
					46	0	3.0	5.0	8.5
					Average	0	1.0	12.5	14.3
none		about the 140th day after birth	Living BCG	1.0mg	1009	0	0	23.0	24.0
					1010	0	0	19.5	17.0
					Average	0	0	21.3	20.5
				0.1mg	1011	0	0	29.0	26.5
					1021	0	0	12.0	17.5
					Average	0	0	20.5	22.0

\* Tuberculin skin test was carried out by injecting the animals intradermally with 0.1 ml of diluted 1:10 OT-BCG and with 0.1 ml of diluted 1:50 OT-H<sub>37</sub>Rv.

