

新生時 BCG ツベルクリンの注射を受けた モルモットのツベルクリン感受性と 感染防禦力について

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）

蕪 城 外 枝 子 吉 村 政 弘

（受付：昭和38年10月14日）

緒 言

前報¹⁾において私達は出生直後より21日間連日 BCG 死菌を注射されたウサギでは成熟後 BCG 接種を受けた場合、血中抗体の産生は抑制されたが、ツベルクリン（以下「ツ」）皮膚感受性の発現はさほど明らかには抑制されないことを報告した。

今回はモルモットを用い、新生時における「ツ」の注射が成熟後 BCG を接種したのちの i) 「ツ」皮膚感受性発現に及ぼす影響を追求するとともに、ii) BCG の毒力菌感染防禦能をどのように修飾するかについて検討を加えた。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

健常モルモットから得られた子モルモットを、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 H₃₇Rv 株の2株より次の抗原を作製した。

イ) BCG 菌液：Sauton 培地 37°C 2 週間培養の菌苔をとり、濾紙で除湿後秤量して、1mg/ml に生理的食塩水（以下生食水）に浮遊した。（生菌数 9.4×10^6 /ml）

ロ) H₃₇Rv 菌液：Sauton 培地 37°C 3 週間培養の菌苔をとり、除湿後秤量して 0.2mg/ml に生食水に浮遊した。（生菌数 4.6×10^6 /ml）

b) OT：前記2株の Sauton 培地 8 週間培養濾液を型のごとく 1/10 に濃縮し、これを原液として保存し

た。以下それぞれ OT-BCG および OT-H₃₇Rv と記載する。neonatal injection には OT-BCG を蒸留水中で一昼夜透析し、水を加えて10倍になるよう希釈したのち、0.85%の割に食塩を加えたものを用いた。

3) neonatal injection

生後12時間以内より前記10倍希釈OT-BCGを0.5ml あて連日21回腹腔内に注射した。

4) BCG 接種

生後3～4カ月目に背部正中皮内に前記BCG菌液を0.1ml (0.1mg) あて注射した。

5) 感 染

BCG接種後31日目に H₃₇Rv 菌 0.5ml (0.1mg) を右大腿部内側皮下に注射した。

6) 皮 膚 反 応

前報¹⁾記載のとおり行った。

* 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。

7) 剖検ならびに臓器内結核菌定量培養

感染後38日目に全動物を撲殺し, 肺, 肝, 脾および
 淋巴腺の病変を肉眼的に観察し, Feldman index²⁾に

より記載した。さらに肺, 肝および脾については小川
 氏法³⁾により定量培養を行った。

実 験 成 績

出生直後のモルモットを2分し, 1群には前
 記のごとく OT-BCG の neonatal injection
 を行い, 他の1群は無処置のまま放置し, 生後
 3~4カ月に両群とも BCG 0.1mg を接種した。
 BCG 接種31日後に両群とも H₃₇Rv 株 0.1mg
 を感染した。なおこの際対照として生後無処置
 かつ BCG 非接種のモルモットにも感染を行っ
 た。以下新生時処置, BCG 接種, 感染群をA
 群, 新生時無処置, BCG 接種, 感染群をB群,
 新生時無処置, BCG 非接種, 感染群をC群と
 略記する。「ツ」皮膚反応は BCG 接種前, 接
 種後2週および4週, 感染後2週および5週に
 行った。感染後38日目に撲殺して剖検し, あわ
 せて臓器内結核菌定量培養を行った。

1) BCG 接種後の「ツ」感受性発現に及ぼ
 す新生時 OT-BCG 注射の影響

BCG 接種4週間におけるA群とB群の「ツ」
 皮膚反応の成績は第1表のごとく, OT-BCG
 に対する反応はA群では9匹ともすべて陰性で
 あったが, B群では6匹中5匹が疑陽性, 残り
 の1匹は陽性であった。OT-H₃₇Rv に対する
 反応では, A群が陰性6匹, 疑陽性3匹であ
 ったに反し, B群では疑陽性4匹, 陽性2匹であ
 った。BCG 接種4週間後におけるA群とB群の
 間のこのような差異は, 新生時における OT-
 BCG の注射が成熟後 BCG 接種による「ツ」
 感受性の発現に対し抑制的效果を有することを

示している。

しかしながら感染2週後 (BCG 接種後45日
 目) および5週後ではA群とB群との間の「ツ」
 感受性に差が認められなかった。(第1図)

2) BCGの感染防禦能に対する新生時 OT-
 BCG 注射の影響

A, BおよびC群の剖検時肉眼的所見を Feld-
 man index で表示した成績が第2表である。
 すなわち, A, B 両群の Feldman index の
 平均値はそれぞれ13.5, 7.3で前者が後者より
 やや大であったが, 両群ともC群の39.5に比し
 て明らかに小であった。脾重量の平均について
 も, A, B両群はそれぞれ0.9, 1.1gm と近似
 し, C群の3.4gm に比して明らかに小であ
 った。又, 肺, 肝および脾の臓器内結核菌定量培
 養でもA, B両群はいずれの臓器にも菌の発育
 が認められなかったが, C群においては肺, 肝
 および脾のおおの 0.001gm からの平均集落
 数はそれぞれ155, 670および700であった。こ
 れら BCG 接種群 (A群およびB群) と BCG
 非接種群 (C群) との間にみられる明らかな差
 は BCG の感染防禦能を示すものであって, A
 群とB群との間にみるべき差がなかったことは
 この実験に用いられた OT-BCG の neonatal
 injection が BCG の感染防禦効果に対して
 影響を与えなかったことを示している。

考 案

先に¹⁾ 私達はウサギについての実験で BCG
 死菌の neonatal injection が, 成熟後 BCG
 接種による血中抗体の産生を抑制するが, 「ツ」
 皮膚感受性の発現には顕著な影響を与えないこ
 とを認め, すでに報告した。そこで今回は「ツ」感
 受性問題を改めて検討するため, 最も適当な動
 物といわれるモルモットを用い, OT-BCG の

neonatal injection が成熟後の BCG 接種に
 による「ツ」反応の発現にどのように影響するか
 について検索した。それによると出生直後より
 連日21回 0.05ml あて OT-BCG の注射を受
 けたモルモットでは生後3~4カ月に行った
 BCG 接種による「ツ」感受性の発現が明らか
 に阻害されていることが認められた。Weiss⁴⁾

はヒト型結核菌強毒株から得られた OT 0.2ml を出生直後に 1 回モルモットに注射することによって、出生 8 週間後における BCG 生菌接種後 4 週では 5 例中 4 例において「ツ」皮膚反応が陰性であったが、その 4 例も更に 2 週間後ではすべて疑陽性又は陽性となったと述べている。本実験では BCG 接種後 28 日目に「ツ」感受性を検索、その 3 日後にヒト型結核菌の感染を行い、「ツ」感受性の低下と毒力菌感染に対する抵抗力との関係を追求した。なおついでにその後の「ツ」反応を検討すると、感染 2 週間後 (BCG 接種 45 日後) および 5 週間後では新生時 OT 処置群と非処置群との間ではもはや「ツ」感受性に差を認めることは出来なかった。これを Weiss⁴⁾ の成績とあわせ考えると OT-BCG の neonatal injection による「ツ」感受性の上での tolerance の状態は BCG 接種後の早い時期にみられる一時的なものといえるであろうか。

結

出生直後より OT-BCG を連日 0.05ml あて連日 21 回注射したモルモットに生後 3~4 カ月目に BCG 生菌 0.1mg を接種し、その 4 週間後「ツ」感受性を検し、更に BCG 接種 31 日後にヒト型結核菌 H₃₇Rv 株 0.1mg の感染を行い、感染後 38 日目に撲殺して Feldman index を求めるとともに臓器内菌定量培養を行って、

文

- 1) 小西健一, 吉村政弘: 金大結研年報, 21, 264, 1964.
- 2) Feldman, W. H.: Am. Rev. Tuberc., 48, 248, 1943.
- 3) 小川辰次: 結核, 24, 19, 1949.
- 4) Weiss, D. W.: J. Exp. Med., 108, 83, 1958.

さて毒力菌感染後 38 日目に剖検して Feldman index を求め、臓器の菌定量培養を行った成績からみて、新生時に OT-BCG の注射を受けたウサギでは成熟後に接種された BCG による「ツ」感受性発現の抑制が見られるけれども、その後の毒力菌感染に対する抵抗性は新生時に OT の注射を受けずに成熟後 BCG を接種されたウサギの抵抗性とほとんどかわりがないように思われる。しかしながら一方 Felton⁵⁾ および Felton ら⁶⁾ は成熟マウスにおける immunological paralysis という現象について報告し、Brooke & Karnovsky⁷⁾ のようにそれが immunological tolerance と同一機序によって成立すると推定しているものもあるので、challenge に living organisms を用いるような複雑な関係における tolerance の問題については更に今後の検討がまたれるところである。

論

次の結果を得た。

- 1) 新生時に投与された OT-BCG は成熟後における BCG 接種による「ツ」感受性の発現を著しく抑制した。
- 2) 新生時に注射された OT-BCG は成熟後に接種された BCG の結核感染防禦能にほとんど影響を与えなかった。

献

- 5) Felton, L. D.: J. Immunol., 61, 107, 1949.
- 6) Felton, L. D., Kauffman, G., Prescott, B. and Ottinger, B.: J. Immunol., 74, 17, 1955.
- 7) Brooke, M. S. and Karnovsky, M. J.: J. Immunol., 87, 205, 1961.

Table 1
Tuberculin skin tests of guinea pigs injected neonatally with OT-BCG

Neonatal injection		Challenge injection with living BCG		Animal No.	Tuberculin skin test 28 days after challenge injection	
Antigen	Duration	Time (days after birth)	Dose of BCG		Average diameter of erythema 48 hours after injection of	
					OT-BCG*	OT-H ₃₇ Rv*
0.5ml of OT-BCG diluted 1:10 (total 10.5 ml of OT-BCG diluted 1:10)	21 days following birth	90	0.1mg	1	4.5	5.0
		90		2	0	0
		95		5	4.5	5.0
		95		6	0	0
		100		7	0	4.0
		100		8	0	0
		108		11	0	4.0
		114		13	0	0
		114		14	4.0	6.0
		Mean			0.6	3.0
none		92		3	8.0	9.5
		92		4	7.0	8.0
		104		9	5.0	5.0
		104		10	8.0	8.0
		108	12	7.5	10.0	
		121	15	11.0	12.0	
		Mean		7.1	8.0	

* Tuberculin skin test was carried out by injecting the animals intradermally with 0.1 ml of OT-BCG diluted 1:10 and with same quantities of OT-H₃₇Rv diluted 1:50.

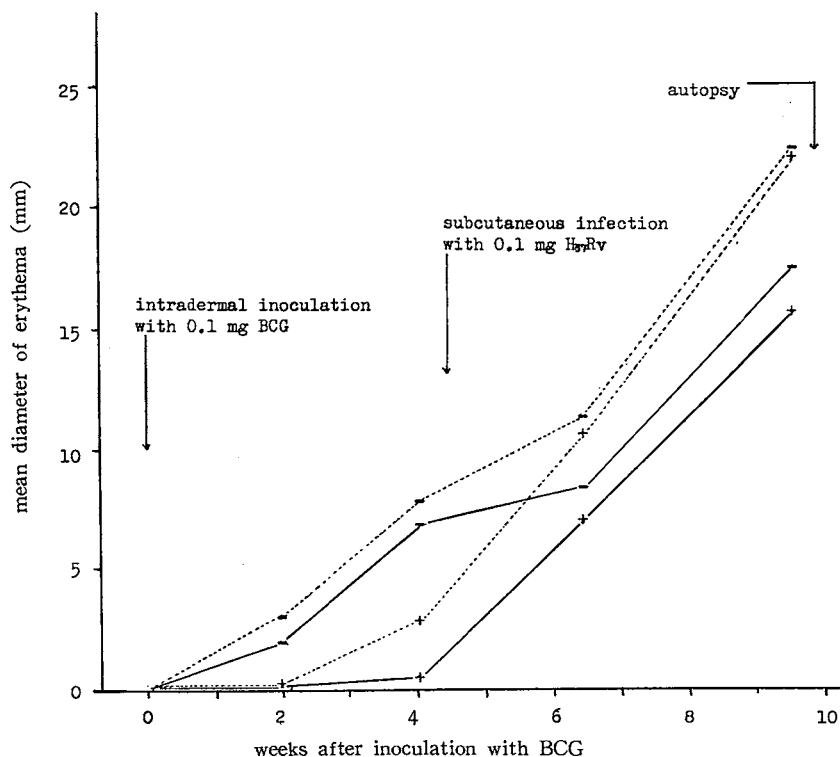


Fig. 1 Curves showing the mean titer of tuberculin skin reaction of guinea pigs with or without neonatal treatment by OT-BCG

The solid line indicates skin reaction with OT-BCG, and the dotted line with OT- $H_{37}Rv$. Remarks represent the following; + = animals treated neonatally with OT-BCG, and - = animals nontreated neonatally.

Table 2

Experiment on resistance against tuberculous infection of guinea pigs treated neonatally with OT-BCG and vaccinated with BCG 3 to 4 months after birth

(31 days after vaccination with BCG all animals including non-treated controls were infected subcutaneously with 0.1mg of tubercle bacilli, human type $H_{37}Rv$. 38 days later survived animals were killed and autopsied.)

Neonatal injection with OT-BCG*	Vaccination with BCG from 3 to 4 months after birth*	Challenge with $H_{37}Rv$ 31 days after vaccination	Number of animals	Average weight of spleen (gm)	Average Feldman index by gross examination of organs				
					Lymph nodes at the site of infection	Spleen	Lung	Liver	Total
+	+	+	9	0.9	1.1	3.9	4.1	4.4	13.5
			6	1.1	1.1	3.5	1.0	1.7	7.3
-	-		3	3.2	3.0	12.5	20.0	4.0	39.5

* See Table 1.

Table 3
 Experiment on resistance against tuberculous infection of
 guinea pigs injected neonatally with OT-BCG and
 vaccinated with BCG 3 to 4 months
 after birth

(Readings were made 28 days after the inoculation on Ogawa's egg medium)

Neonatal injection with OT-BCG*	Vaccination with BCG 3 to 4 months after birth*	Challenge with H ₃₇ Rv 31 days after the vaccination	Number of animals	Average number of viable units recovered from 1/1,000 gm organs		
				Spleen	Lung	Liver
+	+	+	9	0	0	0
-			6	0	0	0
-			3	700	155	670

*See Table 1.