

ツベルクリン様物質を産生する 一変異菌株 B.O.K. に関する研究

第 2 篇

病原性及感染防禦能に就いて

金沢大学結核研究所細菌免疫部 (主任：柿下教授)

専攻生 粟津喜久夫

Kikuo Awazu

(受付 昭和29年3月1日)

KIKUO AWAZU:— STUDIES ON VARIANT STRAIN B. O. K. PRODUCED
TUBERCULIN-LIKE SUBSTANCE. (Report II)
Pathogenity and Defence Function.

The Immuno-bacteriological Department of the Tuberculous Research
Institute in Kanazawa University. (Director: Prof. M. Kakishita, M. D.)

(Received for Publication: March, 1, 1954)

第1項 緒 言

前篇に於いて B. O. K. の一般生物学的諸性状に就いて述べたが、その際指摘せる如く、カタラーゼ及びウレアーゼ反応陽性、糖分解能及び各種抗結核剤に対する態度等非病原性抗酸性菌の性状に近似せる点が多い。依つて本篇に於いては、B. O. K. の海猿、家兎及びマウスに対す

る病原性の有無を人型結核菌と、一部には自然界非病原性抗酸菌たるチモテー株と比較検討し、併せて本菌感染動物にツベルクリン・アレルギーを附与せしめ得るや否やを検し、更に結核感染に対し防禦能を賦与せしめ得るや否やを BCG と対比研究したのでその成績を報告する。

第2項 実験動物に対する病原性

実験動物は海猿、家兎及びマウスを用いた。海猿 (270~400g) 並びに家兎 (2 kg 程度) は何れも感染前日「ツ」5倍稀釈液で Römer 反応陰性なる事を確認したる後使用した。マウスは 15~20g の健康なるものを用いた。

接種菌は B. O. K., 人型結核菌 H₃₇RV 株並びにチモテー株で、何れも岡・片倉培養 2 週前後のものより型の如く均等な生理的食塩水浮游液を作製して使用した。

接種方法は、海猿では皮内、皮下及び腹腔内接種、家兎及びマウスは静脈内接種によつた。

これらは所定期間観察せる後撲殺剖検に附した。尙実験中斃死せるものは直ちに剖検しその死因を明らかにした。(B. O. K. 接種群は他の結核動物よりの二次感染を防止するためその飼育箱並びに置場所に就いては特に意を用いた。)

剖検時、肺肝脾の一部 (0.1~0.2g) より定量培養を行い、残りの組織はホルマリンで固定し組織的検査に供した。

内臓及び淋巴腺の病変の記載は小林²⁴⁾の報告に準じた。

(I) 海獣に対する病原性

(1) 皮内接種実験

B. O. K. 1mg/0.1cc 浮游液を5頭の高嶺の皮内に接種し、その局所及内臓の変化を観察した。

局所々見は第1表に示す如く、翌日より発赤し、3頭は一時小潰瘍を形成したが他は痂皮を形成し、大体10日前後で何れも治癒した。

8週後撲殺剖検したが内臓には何らの変化も見られなかつた。

第1表 B. O. K. (1mg) 皮内接種高嶺に於ける局所反応

海番 旗号	接種後の経過日数														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
23	R	R	R	G	G	K	K	K	K	-	-	-	-	-	-
24	R	R	R	G	K	K	K	±	±	-	-	-	-	-	-
25	-	R	R	K	K	K	K	±	±	±	±	-	-	-	-
26	R	K	K	K	K	K	K	±	±	-	-	-	-	-	-
27	R	R	G	G	K	K	K	±	-	-	-	-	-	-	-

註 R……発赤 G……潰瘍
K……痂皮 ±……痕跡程度のもの

(2) 皮下接種実験

B. O. K. 0.5mg, 1.0mg, 5mg, 10mg 及 20mg を、対照として H₄₇RV 株1.0mg を各数頭宛夫々左大腿部皮下に接種し、凡そ50~100日間観察した。(各例の剖検迄の期間は表中に記載す)

その成績は第2表に示す如くであつた。即ち実験の途中斃死せるもの2頭あつたが何れも腸炎によるもので、本菌は何れの接種量に於ても致死せしめなかつた。而も体重の減少を来せるもの1頭のみ、他は順調なる發育を遂げた。然るに人型結核菌感染動物は極度に瘠瘦し、うち1頭は55日で斃死した。

以下全体の肉眼的並びに組織学的所見を総括して述べると

i) 肉眼的所見

注射局所は20mg 接種群では2例共に膿瘍を形成し、後自潰して潰瘍となり中に乾酪化物質を蔵し、塗抹及び培養により B. O. K. を証明し

た。この潰瘍は3週間で癒痕治癒を来した。10mg 以下の接種群でも初期には局所に小腫瘍を触れる事があるが数日にして消失した。対照の H₃₇RV 接種動物では局所に潰瘍を形成し、それは極めて難治性であつた。

接種部位所属の淋巴腺は、対照動物に於ては甚だしく肥大し且乾酪化を見るも、B. O. K. 20mg 接種群では小豆大の腫脹を見たが前者より遙かに軽度であつた。又本菌接種群では一部に腸間膜淋巴腺の腫脹を見たが、その他の淋巴腺に於ては殆んど変化はなかつた。

内臓では、B. O. K. 接種群は各臓器に於て全く肉眼的所見を欠くものが多かつた。併し肺臓では5mg 以上に於て粟粒大の孤立性結節を有するもの3頭、及び病変を疑わしめるもの2頭を認めた。脾臓では軽度の腫脹を認めるもの数頭あるも結節を認むるものは稀であつた。その他肝、腎、副腎等の臓器に病変を認めなかつた。

人型菌感染高嶺は各臓器共に定型的結核性病変で完全に荒廃していた。

以上本菌の皮下接種に依り少数例ではあるが肺及び脾に結節形成を認めた。尚20mg 接種群に於いてその局所及び淋巴腺の変化に比して内臓に於ける変化の軽微であつた事は意外である。

ii) 組織学的所見

肺臓：結節は肋膜直下に認められ、其の所見は細葉性肉芽性増殖性結核の様相を呈し、中心部には乾酪性変化なく少数の上皮様細胞と単核細胞よりなつている。肺胞壁の肥厚は全般的に亘り軽度に存し、小血管の周囲には単核細胞の集簇が僅かに認められる。小血管並に肺胞壁の充盈像が著明で、一部肺胞内に出血像が認められた。気管支及小気管支周囲炎の像は認め難かつた。以上要するに本菌接種による肺に於ける病変は結核結節に類似せる結節と非定型的肺炎像がその主要変化である。

脾臓：脾臓に於ては結核結節を認める事は出来なかつたが、一般に淋巴濾胞芽中心細胞の軽

第 2 表 B. O. K. 皮下接種海猿剖検所見

菌量 mg	番号	接種時体重 g	体重増減 g	感染期間日	致死方法	淋 巴 腺										内 臓				
						浅ソケイ	深ソケイ	仙骨部	腸間膜	肝門窩	腋窩	気管支	浅頸部	深頸部	顎下	肺	肝	脾	腎	
0.5	1	270	+10	48	斃死	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	270	+50	51	撲殺	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1.0	3	340	+20	51	撲殺	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	380	+10	103	〃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	400	+20	103	〃	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5.0	6	420	+30	70	撲殺	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	7	360	+20	70	〃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	*
	8	360	+50	70	〃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	9	310	+90	70	〃	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±
	10	400	+50	70	〃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±
10.0	11	400	+30	72	撲殺	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	12	400	+40	72	〃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	13	310	+70	72	〃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
20.0	14	390	+120	62	撲殺	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±
	15	330	+40	33	斃死	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H ₈₇ Rv 1.0	16	380	-30	55	斃死	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+
	17	400	-10	62	撲殺	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+

C = 乾酪化 * = 培養陽性

第 3 表 B. O. K. 腹腔内接種海猿剖検所見

菌量	番号	接種時体重	体重増減	感染期間日	致死方法	淋 巴 腺										内 臓				
						浅ソケイ	深ソケイ	仙骨部	腸間膜	肝門窩	腋窩	気管支	浅頸部	深頸部	顎下	肺	肝	脾	腎	
B. O. K 10mg	18	310	+40	42	撲殺	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	19	350	+20	42	〃	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	20	290	+50	42	〃	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
チモナー 10mg	21	280	+50	42	撲殺	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	22	300	+30	42	〃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

度の増殖，脾索には網状織細胞，脾細胞の軽度の増殖を認めた．脾洞内の充盈は著明でなかつた．即ち脾臓に於ける所見は慢性脾炎像を呈している．

肝及び腎臓：肝臓に於ても脾同様結核結節は

認められず，一部に於てグリソン氏鞘の周囲に軽度の単核細胞の浸潤を認めるにすぎなかつた．肝細胞の変性も著明には認められた例はなかつた．腎臓に於ては著変がなかつた．

iii) 培養成績

臓器よりの本菌の証明は極めて困難で、僅かに肺に1例、脾に1例証明されたにすぎない。之はB. O. K. が海猿体内で増殖傾向弱く早期に死滅せるためと思われる。人型菌感染動物では各臓器よりの結核菌の証明はすべて陽性であった。

尚本菌接種の1例に於て、その脾より黄色色素産生性抗酸性菌のコロニーの発生を見たが、検索の結果之は自然界に於ける非病原性抗酸性菌の一種で本菌とは全く無関係のものであった。

(3) 腹腔内接種実験

試獣3頭はB. O. K. 10mg対照として2頭にチモテー菌10mgを夫々腹腔内に接種して7週後剖検に附した。

実験成績は第3表に示す如く、何れも多少の病変を認めた。即ち3例共腸間膜は軽度に腫脹を来し又2例に於て肺に数個の孤立性結節を認め、その中1例は脾にも異常所見を認めた。しかし一般状態は極めて良好であった。

尚対照たるチモテー株接種群では何等所見は見出されなかつた。

組織学的所見は大体皮下接種群と同様である。

培養試験は何れも陰性であった。

(II) 家兎に対する病原性

2頭の家兎の静脈内にB. O. K. 10mgを接種

し3週目及び6週目に一頭宛剖検したが、肉眼的には全然変化は見られなかつた。組織学的には僅かに肺胞壁の細胞増加と部分的に血管周囲、気管支周囲に単球様細胞が集簇するを認めるのみであった。脾臓に於ける所見は海猿皮下接種群に於けると同様であった。肝及び腎臓には特記すべき変化は見られなかつた。即ち組織学的には大体海猿に於ける病変に似ているがその変化は甚だ少なかつた。培養はすべて陰性であった。

(III) マウスに対する病原性

マウス15匹に就いて、B. O. K. 1mg, 5mg及び10mgを夫々5匹宛静脈内接種し7週後剖検した。

肉眼的所見では、1mg接種群は全く変化なく5mg接種群の1例に於て肺上葉の硬化及び充血を認め、10mg接種群の1例に於いて肺の孤立性結節及び脾の腫大、更に1例に於いて脾の腫大のみを認めた。

組織学的所見は大体海猿に於けると同様であったが、結節及び肺腫の病巣中にはかなりの多核白血球を見る点が多少趣を異にする。従つて結節及び非定型的肺炎像が主要変化であるが、病変度は稍々弱い。脾に於ける所見は之亦慢性肺炎の像を呈していた。

培養成績は何れも陰性であった。

第3項 動物通過実験

前項に於て述べたる如く、B. O. K. の大量接種に依り一部海猿の肺又は脾に結核類似の病変を認めたので、海猿の睾丸通過に依る菌力の上昇を試みた。

先ず健康雄海猿の左側睾丸内にB. O. K. 10mgを接種し、約1ヶ月後Römer反応を検し、陽性なることを確めたる後撲殺し検するに、内臓には変化なく接種側の睾丸は対側に比して稍々発赤腫脹していた。此の睾丸より生理的食塩水を以て乳剤を作り、その半量は別の健康海猿の左側睾丸内に接種し、残部を岡・片倉培地に培

養した。培養成績は培養基10本中2本にB. O. K. の發育を認めた。

第2代目接種海猿に於ては1ヶ月後のRömer反応は疑陽性で可成り減弱し、接種局所にも変化は見られなかつた。更に之を撲殺し(剖検所見なし)、接種側睾丸を第3代目の通過材料に供し、一部を培養したが培養は陰性で第3代目試獣のRömer反応も遂に陰性で、剖検に於ても全く変化を認めなかつた。即ち動物通過によりB. O. K. の菌力を増加せしむる事は出来なかつた。

第4項 「ツ」アレルギー附与能について

本菌接種海猿に於ける「ツ」アレルギーの有無を次の4群に分つて比較検討した。即ち第1群はB. O. K. を0.5, 1.0, 5.0及び10.0mg を各々2頭宛の海猿に皮下接種し, 第2群はB.O.K 加熱死菌を流動パラフィン1.0cc中に10mg 含む如きワクチンを作製し, その0.2cc宛を6頭海猿に各々四肢の3ヶ所に接種し(全量6.0mg), 第3群は人型菌H₃₇RV株を1.0mg皮下に, 更に第4群にはチモテー菌10mgを腹腔内に接種し, それぞれ接種前, 及び接種後2, 4, 6, 7週目に10倍稀釈日 ツベルクリンを用いてRömer 反応を検した。

その成績は第4表に示す如くであつた。即ちB. O. K. を接種せし第1群に於ては, 0.5mgを接種せし2頭並に1.0mg接種の内1頭は陰性であつたがその他は2週以後疑陽性或いは陽性反応を呈し, 第4週に於て最も著明で, 7週目に到れば減弱した。然るに流パラ・ワクチン注射の第2群では4週に於て著明な反応を表し, 7週目に於ても概ねその成績を保持した。第3群の人型菌感染海猿では第2週以後常に陽性反応を呈したが, チモテー接種海猿は観察期間中陽転を認めなかつた。

第4表 B. O. K. 接種海猿に於ける「ツ」反応成績

接種材料	菌量(mg)	動物番号	接種後の経過(週)					
			前	2	4	6	7	
B.O.K. 生菌感染	0.5	1	0	0	3×4	0	0	
		2	0	3×4	0	0	0	
	1.0	3	0	0	0	0	0	
		4	0	6×4	10×7	5×5	4×4	
	5.0	5	0	11×10	10×10	12×9	10×8	
		6	0	3×3	11×10	5×5	6×6	
	10.0	7	0	6×4	13×14	7×7	7×7	
		8	0	0	11×10	4×2	0	
	B.O.K. 流パラワクチン	6.0	28	0	.	15×15	.	13×13
			29	0	.	20×20	.	21×19
			30	0	.	20×20	.	20×21
			31	0	.	20×15	.	15×15
32			0	.	20×17	.	20×18	
33			0	.	15×15	.	14×14	
人型 H ₃₇ RV	1.0	16	0	7×8	11×12	10×11	12×12	
		17	0	15×19	20×22	25×20	22×20	

以上要するにB. O. K. は海猿に対して一程度の「ツ」・ア附与能力のある事を認めた。

第5表 感染防禦実験成績

群別	免疫の種類	免疫期間	人染迄型後の菌剖期感検間	動物数	淋巴腺病変度	内臓病変度
1	B.O.K. 0.1mg	32日	108日	4	■■■■	■■■■
2	B.O.K. 1.0mg	32日	113日	8	■■■■	■■■■
3	B.O.K. 流パラ 6.0mg	91日	122日	6	■■■■	■■■■
4	BCG 1.0mg	32日	113日	4	■■■■	■■■■
5	対照	.	113日	5	■■■■	■■■■

第5項 結核感染防禦実験

本菌は海狸に対して殆んど病原性なく、且弱き「ツ」アレルギーを賦与せしめる事より、かのBCGの如く本菌を結核免疫に使用し得ざるやと思ひ、BCGと対比して次の実験を行つた。

即ち海狸を次の5群に分ち

- 第1群：B. O. K. 0.1mg 皮下接種群
- 第2群：B. O. K. 1.0mg 皮下接種群
- 第3群：B. O. K. (6mg) 加熱死菌流パラ感作群
- 第4群：BCG 1.0mg 皮下接種群
- 第5群：無処置対照群

とし、B. O. K. 並びにBCG生菌に依る免疫群は1ヶ月後、B. O. K. 流パラワクチン免疫群は3ヶ月後に人型結核菌 H₂ 株0.1mg を右ソケイ部皮下に接種し、3~4ヶ月後に撲殺剖検し比較検討した。

その成績は第5表に示せる如く、第1群及び第2群の病変度は対照と殆んど異なる所なく免疫皆無に等しかつた。しかし第3群即ちB. O. K. 流パラ感作群は之に較べ病変は可成り少く、B. C. G 群より劣るも一程度の免疫効果を有している事を証明した。

第6項 総 括

著者は動物実験に依りB. O. K. の病原性並びに結核感染に対する免疫原性を検し次の結果を得た。

(1) B. O. K. は海狸、家兎及びマウスに対しその大量(5mg以上)接種に依つて時に軽微な病変を呈し、結核様結節を形成するも、進行性の状態は認められない。

(2) 本菌に依る病変は、肺に於ては結核結節に類似せる結節と非定型的肺炎像で、脾に於ては慢性脾炎の像である。

(3) 本菌接種動物より本菌の検出は甚だ困難

で、体内での増殖は極めて少いものと思われる。

(4) 動物通過により毒力の増加は見られなかつた。

(5) 海狸に対しB. O. K. の接種により人型菌旧「ツ」に対するアレルギーを附与し得る。

(6) B. O. K. の0.1及1.0mg 或いはその流パラ・ワクチン(6.0mg)を以て感作する場合、前者に於ては結核感染防禦能を認めなかつたが、後者では、BCG 接種海狸に比較すれば弱いが或程度の結核感染防禦能を有する事を認めた。

(結論並びに文献は最後篇に譲る)

Summary

B. O. K. proved to have no pathogenicity for rodents. In some cases of experimental animals inoculated with a large quantities of living B. O. K., some tubercle-like lesions were observed in lungs and spleen.

Culture experiments to detect B. O. K. from the foci of the lesions have failed.

Although allmost all the B. O. K. inocu-

lated animals were found the become sensitive to some extant to tuberculin, the animals, after infection with virulent tubercle bacilli, showed no sign of reterdation in developing the tuberculosis as compared with control animals.

Even many animal-passages, B. O. K. remained non pathogenic.