

流動パラフィン加結核加熱死菌ワクチンによる 感作免疫機序の検討

[第3篇] 人型菌及びBCGのワクチンによつて成立する
ツベルクリン・アレルギー並びに感染防禦力

(京都大学結核研究所細菌血清学部 指導 植田 三郎教授)

岡 田 博

(受付昭和33年9月30日)

緒 言

前2篇の実験によつて、流パラ死菌ワクチンは高度且つ一定期間持続の「ツ」アレルギーを発現し、又「ツ」アレルギーが減弱し始めるよりも早い時期(ワクチン接種7週後迄)に生菌を感染させた場合には、可成り顕著な感染防禦力を海狸に与えることを示した。そこで現在一般に多少共生体に感染防禦力を賦与するとみられているBCG生菌ワクチンと比較した場合に、此の流パラ死菌ワクチンはどれ程の効果を有するものかを検討することとした。従来諸研究者の報告を省りみると、結核加熱死菌を固形パラフィンに包埋して接種すると、極めて強い「ツ」アレルギー並びに感染防禦力を動物に与える事を Coulaud^(1,2) が発表して以来、多数の研究者によつて流動パラフィン、ワゼリン、オリーブ油等各種の油脂類を Adjuvant として使用して追試されてきた。その結果大多数の研究者は多少共その効果を認めているようである。就中、Saenz^(3,4,5,6,7) Corper and Cohn⁽⁸⁾, Rist⁽⁹⁾, 又我国に於ても 大林・岩崎⁽¹⁰⁾, 岡・山田^(11,12,13), 橋本⁽¹⁴⁾ 等は本ワクチンの免疫効果の極めて顕著なことを認めている。因みに此等の研究はすべて、各種の方法で作つた死菌ワクチンとその効果を比較したものである。然るに今、BCG生菌の効果と比較した実験をみるに 吉田⁽¹⁵⁾はその効果に逕庭のない事を主張したが、Fenner⁽¹⁶⁾, Thomas⁽¹⁷⁾, Boquet and Laporte⁽¹⁸⁾, 金井^(19,20)

山口^(21,22), 金光⁽²³⁾, 等は流パラ死菌ワクチンの感染防禦力はBCG生菌に及ぶべくもない事を指摘した。又全くその感染に対する抵抗性を否定する学者^(28,29,30,31)もなくはない。要するに今日迄の段階では、その感染防禦賦与力はBCG生菌に勝る結果が期待出来ないと云ふのが皺勢の様に思はれる。併乍ら、第2篇の実験結果から、流パラ死菌ワクチンで前処置する場合には生菌を感染させる時期の選び方が重要な事を確認出来たが、此事は畢竟、前処置後の皮膚の「ツ」アレルギー並びに生菌感染に対する抵抗性の接続期間がBCG生菌に比して流パラ死菌ワクチンの方が短い為ではないかと云う可能性も考えられる。而て、今日迄の多数の報告では、流パラ死菌ワクチン接種後発現する「ツ」アレルギーの経過を追つて生菌感染を試み、その感染防禦力を検討した実験は見られない。そこで本篇に於ては、此点を吟味する為にBCG生菌並びに流パラ死菌ワクチン接種後経過を追つて生菌感染を行い、その感染防禦力を検討した。

実験その1 「ツ」アレルギーの比較

方法 ソートン培養基3週間培養のBCGを0.1mg/ccの浮游液(生食水)に調製し、此の菌液1cc宛を海狸の左膝襠部皮下に接種した。次に流パラBCG加熱死菌は、同じくソートン3週間培養のBCGを濾紙上に集めて乾燥、秤量し、瑪瑙乳鉢で磨碎し乍ら流パラを

第 1 表 BCG 生菌，流パラ F 株死菌，流パラ BCG 死菌のツベルクリン・アレルギー

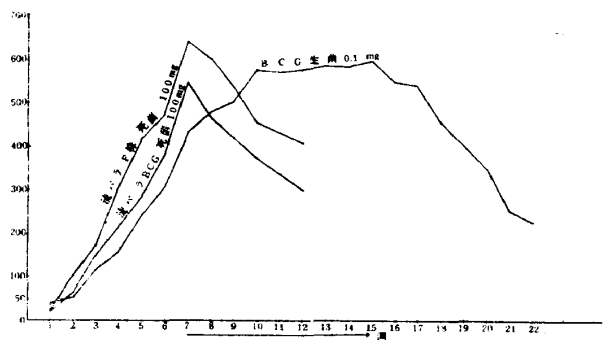
媒液	菌株及び接種菌量 (mg/cc)	ツベルクリンアレルギー (100×O. T. 0.1cc 皮内注射48時間値)											
		2w	4w	6w	7w	8w	10w	12w	14w	16w	18w	20w	22w
生食水	BCG 生菌 0.1	7×6	12×11	16×15	20×18	22×20	23×22	23×21	21×21	21×21	20×20	18×18	14×13
		9×9	15×15	21×21	24×24	24×24	26×26	28×26	28×28	26×26	24×22	21×18	19×14
		8×6	12×10	16×16	19×19	21×20	24×23	23×23	23×23	23×23	21×21	20×18	16×13
流動パラフィン	F 株死菌 100	9×8	17×15	19×18	25×22	24×22	21×20	19×19					
		11×10	18×18	23×21	26×24	26×24	23×20	21×20					
		12×10	20×18	25×24	28×27	26×25	23×21	22×21					
	BCG 死菌 100	8×8	16×16	20×20	26×25	23×23	21×20	19×19					
		10×8	14×14	19×19	22×22	21×20	19×18	17×17					
		9×6	15×13	20×20	23×22	22×20	20×18	17×17					

徐々に加え、1cc 中菌量 100mg になる如く調製し、菌液作製後コッホ釜で 100°C 1 時間加熱殺菌した。尚流パラ人型死菌ワクチンは、前 2 篇の実験と同様、ソートン 4 週間培養の F 株を使用し、その菌液調製方法は流パラ BCG 死菌と同様にした。此の流パラ人型 F 株死菌ワクチン及び流パラ BCG 死菌の 1cc(100mg) 宛も亦夫々海猿の左膝装部皮下に接種した。海猿は 500~600g で、ツベルクリン反応陰性の雄を各群につき夫々 3 匹宛使用した。

以上の方法で招来する「ツ」アレルギーは、毎週 100 倍旧ツベルクリン液 0.1cc を皮内注射し、その 48 時間後の発赤の大きさを判定の標準とし、併せて硬結の有無を参照して比較検討した。此の場合流パラ中に懸濁した人型 F 株及び BCG の両死菌群は 12 週迄、BCG 生菌群は 22 週迄の「ツ」アレルギーを追求した。

成績 第 1 表及び第 1 図で明らかな如く、夫々 3 群の「ツ」アレルギーは何れも接種 3 週後より陽性に発現した。「ツ」アレルギーの全経過を観察すると、流パラ中に懸濁した両死菌接種群は、殆んど平行した経過を辿り、両群何れもその「ツ」アレルギーは 7 週後に於て最も強い発赤及び硬結を示した。それ以後は漸次その強さは減弱し、12 週後には略々前処置 5 週後と同じ程度に迄減弱した。因みに此の場合の反応は、強毒菌人型 F 株の方が弱毒菌 BCG よりも稍々強かつたが、発赤の色調は両者略々同様であつた。一方 BCG 生菌接種群の「ツ」ア

第 1 図 BCG 生菌，流パラ F 株死菌，流パラ BCG 死菌の「ツ」アレルギーの推移



(註) 縦軸は発赤の長短径の積 (mm) 横軸は接種後の週を示す
数値は海猿 3 匹の「ツ」アレルギーの算術平均値

レルギーは、時日の経過に従い、その強さを漸次増強してゆき、接種後 10 週から 15 週の間にて最も強い「ツ」アレルギーを示した。しかしそれ以後は次第に「ツ」アレルギーは減弱し始め、20 週を過ぎると急激にその強さは減弱した。即ち、その「ツ」アレルギーは生菌なる故当然の事乍ら、流動パラフィン中に懸濁した両死菌群に比較すれば、遙かに持続性を有しているのが特徴的であつた。尚、発赤の強さは流パラ死菌ワクチン群に比して変らなかつたが、色調は僅かに相違しているような感じを受けた。

実験その 2 感染防禦力の比較

方法 上記実験その 1 と同じ方法で調製した夫々 3 種の菌液を使用した。

BCG 生菌は 15 匹の健康海猿に 0.1mg(1cc) 宛

流パラ人型F株加熱死菌ワクチンは12匹の健康海猿に、流パラBCG加熱死菌ワクチンは6匹に夫々100mg(1cc)宛、を左膝髌部皮下に接種した。

次にBCG生菌及び流パラ人型F株加熱死菌ワクチンを接種した海猿群には、前処置2, 5, 7, 10週後に、生菌人型F株0.2mgを生食水0.1cc中に浮遊して右膝髌部皮下に感染させた。又流パラBCG加熱死菌ワクチン接種群は同じく5及び10週後に同量の生菌人型F株(0.2mg)を右膝髌部皮下に感染させた。

尚、BCG生菌の場合は、「ツ」アレルギーの持続期間の長いことが、上記実験その1に於て既に判明したので、念の為に前処置22週後に更に感染試験を行つた。尚又、流パラBCG加熱死菌ワクチンを接種した海猿群の感染防禦力

は、前処置5週後及び10週後にのみ検査した。これは「ツ」アレルギーの推移を観察した実験その1に於て、此種ワクチンによる「ツ」アレルギーは、人型F株の同種ワクチンの場合と略々類似した推移を示したが、一般にその値の低いことを既に知つたから、対照としての此種ワクチンの検査は、上記の如く簡略したのである。又同時に、無処置対照として、3匹の健康海猿にも同様生菌F株0.2mgを右膝髌部皮下に感染させた。

かくして感染10週後に屠殺剖検して肉眼的に病変を比較観察し、又、肺、肝、脾から定量培養を行つたが、方法は第1篇の記載と同様である。

成績 成績は第2表及び第2, 3, 4, 5図の如くで、表に於ける数字は内臓及び淋巴

第2表 BCG生菌、流パラF株死菌、流パラBCG死菌の感染防禦力

群 別	BCG 生 菌 (0.1mg)					流パラF株死菌 (100mg)				流パラBCG死菌(100mg)		無処置 対照群		
	2	5	7	10	22	2	5	7	10	5	10			
生 菌 感 染 週	---					KK	KK	KK	KK	KK	KK	---		
接 種 局 所	K	K	K	K	K	A	K	A	A	A	A	---		
肉 眼	淋 巴 腺	膝髌 左右	1 3	0 3	1 2	0 2	1 3	0 3	0 2	0 3	1 3	0 2	1 2	2 6
		鼠蹊 左右	0 2	0 2	1 1	0 1	1 2	0 1	0 1	0 2	0 2	0 1	1 2	1 3
	腺	腋 窩	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
		後 腹 膜	2	1	0	0	2	1	0	1	2	1	1	4
病 変	内 臓	肺	4	3	3	2	4	3	2	3	3	3	3	6
		肝	5	4	4	3	4	4	3	4	4	3	4	7
		脾	7	6	5	4	7	5	4	5	6	4	6	9
		脾重量(g)	1.51	1.20	1.05	0.91	1.47	1.03	0.89	1.07	1.24	0.96	1.34	1.79
生菌単位 (臓器mg 当り)	肺	235.7	126.4	82	44	202.7	106.4	46.8	108.2	129.1	91.2	136	392.7	
	肝	249.1	131	107.7	62	209	101.2	56	99.6	131.9	80.4	140.9	440.7	
	脾	400.2	254	190.4	127.2	344	170.5	101	180	289	150	301	761.6	

(註) 接種局所 { - : 無変化
K : 痂皮形成
A : 膿瘍形成

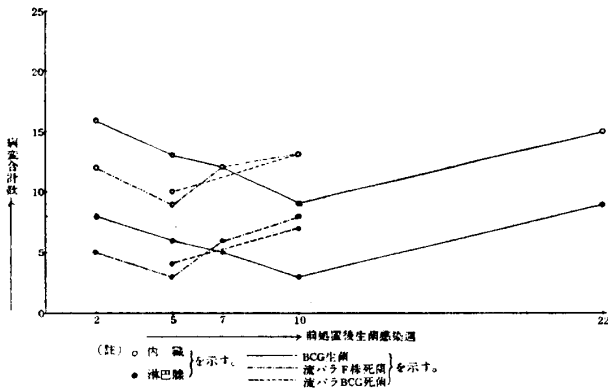
表中の数字は淋巴腺及び内臓の病変の程度を

淋巴腺 { - : 無腫脹
+ : 米粒大迄の腫脹
++ : 小豆大迄の腫脹
+++ : 大豆大迄の腫脹

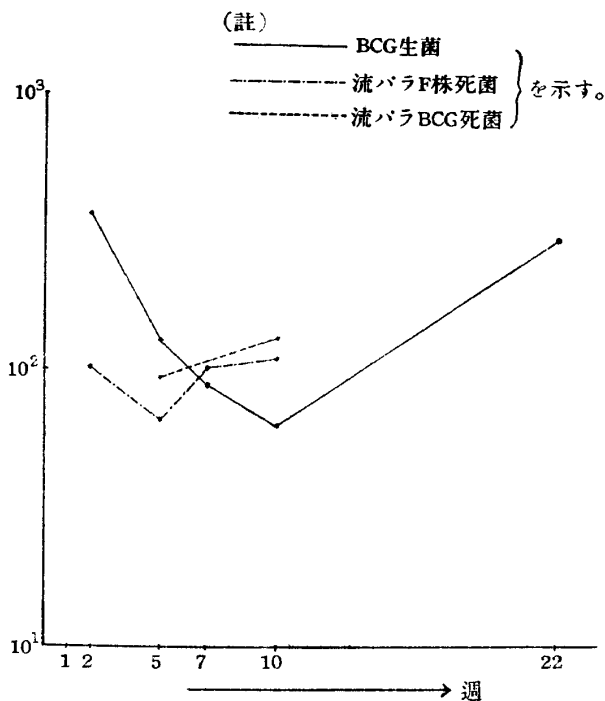
内 臓 { - : 病変を認めず
+ : 5ヶ月以内の結節
++ : 相当数の結節
+++ : 多数の結節

表わし、+~+++の程度を1~3として表現し、試験動物3匹の数を合計する。

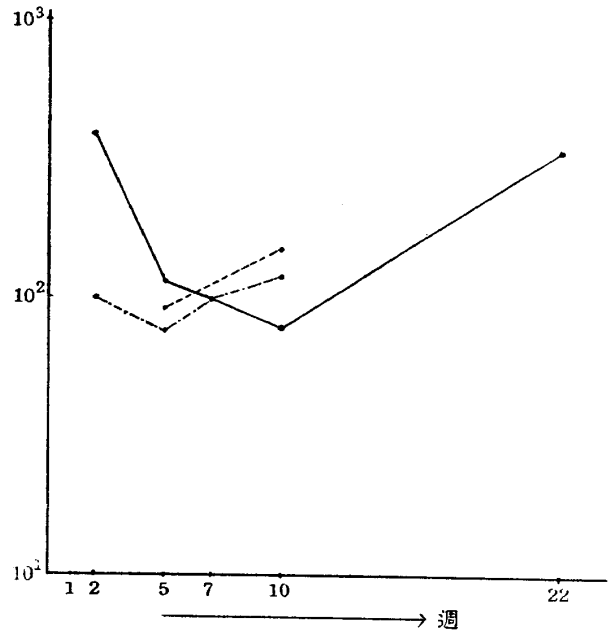
第2図 淋巴腺腫脹及び内臓（肺肝脾）病変合計数曲線



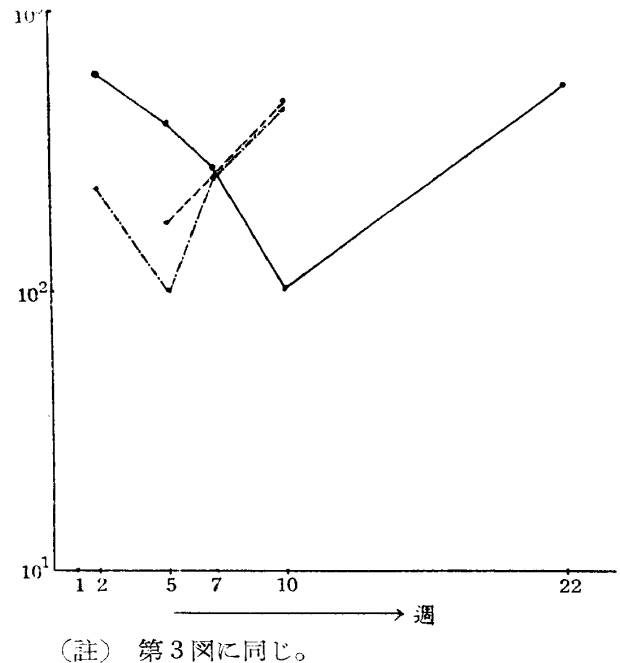
第3図 肺臓1mg中に於ける感染菌の生菌単位曲線(対数)



第4図 肝臓1mg中に於ける感染菌の生菌単位曲線(対数)



第5図 脾臓1mg中に於ける感染菌の生菌単位曲線(対数)



腺の病変の程度を示したものであつて、その記載法は第1篇のそれに従い、又臓器の生菌単位も第1篇と同じ方法によつて算出した。

此際、屠殺剖検時の所見を以て、夫々毒力生菌感染時期に於ける夫々の動物の感染防禦力を仮に示すこととした。而して、流パラ人型F株加熱死菌ワクチン接種群の感染防禦力は、前処置5週後に毒力生菌を感染させた海狸群が肉眼的にも且つ定量的にも、最も顕著な感染防禦力を示し、次で前処置2週後と7週後に感染させたものが良く、此の両群間では殆んど相似した感染防禦力を示していたが、僅か乍ら、前者の

方が優れているように思はれた。そして前処置10週後に毒力生菌を感染させた海狸群が最も劣つた感染防禦力を示した。

次に流パラBCG加熱死菌ワクチンの感染防禦力は、予想通りの成績を示し、前処置5週後の海狸群が10週後のものより優れていたが、しかし、此の前処置5週後の成績も、流パラ人型

F株死菌ワクチンの該当する動物に比べると、僅か乍ら劣っていた。

最後に BCG 生菌接種群の成績は、前処置10週後に毒力菌を感染させたものが最も優れた感染防禦力を示し、次で7, 5, 22, 2週の順序であつた。尚以上3種のワクチンを接種した何れの実験群も無処置対照群に比較すると、毒力生菌感染の時期如何を問はず、多少共明らかな感染防禦力を発現していることを示した。

考 察

本篇の実験結果から、流パラ死菌ワクチン接種によつても、BCG 生菌接種により招来される「ツ」アレルギーに匹敵する程度の顕著な「ツ」アレルギーを発現することが判つた。併乍ら、「ツ」アレルギーの発現並びにその後の推移を観察すれば、両者の間には非常な相違のあることが認められた。即ち、流パラ死菌ワクチン接種群の「ツ」アレルギーは前処置7週後に於て、その最高値に達し、それ以後は次第に減弱してゆき、12週後に略々5週前後の「ツ」アレルギーの強さに迄弱まつてしまうが、之に反し、BCG 生菌接種群では、時日の経過に従い、順次その強さを増してゆき、流パラ死菌ワクチンでは下降し始める前後処置8週以後に於ても尚上昇を続け、10週から15週の間、その最高値を保ち、それ以後は次第に減弱した。即ち、その「ツ」アレルギー持続期間は流パラ死菌ワクチンの場合に比較して遙かに長かつた。欺くの如き相違は、後者は生菌なるが故に海猿体内に於て多少共増殖するに反し、一方前者は細胞の喰菌作用から免れて、可成り長期間滞溜するのであろうが、……此の点に関しては後出第4篇で検討する……何と云つても死菌である故、一定期間後には変性崩壊し、抗元の減少を来す結果、生菌接種の場合の如き長期間の「ツ」アレルギーを持続出来ないのではないかと考えられる。上記2種ワクチンの中の此の様な関係は感染防禦力に就ても亦同様に看取された。即ち、流パラ死菌ワクチン接種5週後に毒力生菌を感染させた海猿群が何故に最もすぐれた感染防禦力を示したかと言う点を考察するに、此事

は要するに、此時期には「ツ」アレルギーが既に顕著に出現し、且つ尚上昇しつつある点からみても、感染防禦力も亦これに平行して最も旺盛である事に因るのではないかと考えられる。而て、それよりも「ツ」アレルギーがまさに下降しようとする前処置7週後、更には日数を経過して「ツ」アレルギーが既に減弱してしまつた前処置10週後に夫々感染させた場合の感染防禦力が何れも常に前処置5週後のそれに及ばなかつた点からみれば、感染防禦力は「ツ」アレルギーと極めて密切な関係に立つことが判る。又、流パラ BCG 加熱死菌ワクチン接種の場合には上記流パラ人型F株加熱死菌ワクチンの所見と近似していた。唯、前者は後者に比して「ツ」アレルギーの発現が一般に弱く、感染防禦力も亦これに平行して低弱であつた。之に反し、BCG 生菌を接種した場合の感染防禦力は、前処置10週後に毒力生菌を与えた海猿群が最もすぐれ、次で7, 5, 22, 2週の順であつた。上述の成績は感染防禦力がよく「ツ」アレルギーに平行する事を示すものであつて、此点柳沢⁽²⁶⁾の観察に類似するように考えられる。

次に流パラ死菌ワクチンを接種した動物が最も優れた感染防禦力を示した前処置5週後と、BCG 生菌を接種した動物が最高の感染防禦力を示した10週後とを比較してみると、両者の成績は匹敵し、或は僅か乍ら、前者の方がすぐれていた。更に、流パラ死菌ワクチンで前処置後2週及び5週という早期に生菌を感染させた海猿群の感染防禦力は、BCG 生菌で前処置した同時期のそれよりもすぐれていると云う事実から、流パラ死菌ワクチンは前処置後短期間に就てみれば、BCG 生菌に劣らない感染防禦力を賦与し得るが、併乍ら、時日が経過すれば比較的迅速にその能力は減弱してゆくと云う点が大きな特徴であつた。

そこで、先進研究者の報告と著者の上記の実験成績とを此処で比較してみたい。従来から流パラ死菌ワクチンの効果に就ては、これを高く評価している研究者^(8,10,11,12,14,15)と、BCG 生菌に比較すると感染防禦力賦与能に於て劣ると述べている研究者^(16,17,18,19,21,23)とがある。このう

ち前者に於ては、殆んどがBCG生菌による感染防禦力とは比較してをらず、その他の種々の死菌ワクチン及び対照の生食水浮游死菌を接種した動物とを比べてその感染防禦力の顕著な事を認めたと過ぎない。一方BCG生菌と比較した研究者は、吉田⁽¹⁵⁾の場合を除き殆んどBCG生菌による感染防禦力に劣ると報告^(16,17,18,19,21,23)している。僅かに吉田⁽¹⁵⁾は両者が略々相等しい感染防禦力を有すると述べているが、彼の報告では、BCG生菌と流パラ死菌は共に等量の5mgを海狸に接種したものであつて、上述の著者の実験成績からみれば、流パラワクチン中の菌量が非常に少く、而も毒力生菌感染が早期に行はれ、更に剖検が比較的短時日後に行はれており、氏の实验に於て、流パラ死菌ワクチンがBCG生菌に略々等しい程度の感染防禦力しか賦与し得なかつたのは当然の結果ではないかと考えられる。

一方吉田以外の研究者の実験では、本ワクチンの感染防禦力が何故にBCG生菌のそれよりも劣つた成績しか得られなかつたかを検討してみると、菌量の点では、Fenner⁽¹⁶⁾、金井^(19,20)、山口^(21,22)、生沼⁽²⁴⁾、等は流パラワクチンとして大量の死菌体を使用すれば、其後に臓器に可成り顕著な変化を生じ、後日の毒力菌感染の結果の判定を誤らしめるとして10mg乃至はそれ以下の菌量を推奨しているが、著者は上記実験に於て、流パラ死菌ワクチンとして人型F株及びBCGの両加熱死菌の夫々100mgを使用した。その結果からみると、此様な大量の死菌ワクチンを接種すれば、成程先進研究者の報告している如く、接種局所淋巴腺の腫大並びに肝臓及び脾臓に於ける可成りの数の粟粒結節を見る事は事実であるが、後日の毒力生菌の試験感染の結果では、此様な動物と雖も、尚且つ対照無処置のものに比較すれば各臓器に於ける病変は稍々目立つて軽い事を確認する事が出来た。此点からみれば、上記諸研究者の懸念は無用であるばかりなく、此様な大量の死菌体を使用する方法によつてこそ初めて流パラ死菌ワクチンの能力を明らかに捕捉することが出来たように考えられる。

次に流パラ死菌ワクチン接種後毒力生菌を試験感染させる時期に就てみるに、従来の諸研究者は「ツ」アレルギーの発展、増強、持続期間等をあまり深く顧慮することなしに、夫々の研究者によつてまちまちの時期に毒力菌を感染させているに過ぎなかつた。併乍ら、著者の上記実験に於ても明らかな如く、流パラ死菌ワクチン接種後毒力菌を試験感染させる時期の選び方によつて、結果としての感染防禦力の表現に可成り顕著な差を招来した。

之等の点から見て、流パラ死菌ワクチンの感作能力に就て上記の如く研究者によつて区々の判断がなされているのは、接種菌量、毒力菌感染時期、屠殺剖検時期等が夫々まちまちであつた為ではなからうかと云う事も考えられる。而して著者の上記実験では大量の死菌体を用いた時は高度に感作する事が出来、同時に適当な時期に毒力菌を感染させるならばBCG生菌に劣らない感染防禦力をも賦与する事が可能であつた。

以上の事実から、此種の実験には関係する各種の条件を予め検討し、その後実施する必要があると云う事が痛感された。

結 論

(1) 流パラワクチンには出来得る限り大量の死菌体を用うべきであつて、そのようにすれば、BCG生菌に比較してその招来する「ツ」アレルギーの強さは劣らなかつた。併乍ら、その持続期間は可成り短かかつた。

(2) 流パラ死菌ワクチンの場合は従つて、毒力菌試験感染の時期を適当に選ぶ必要がある。即ち、「ツ」アレルギーの増強する時期に感染した場合には、BCG生菌の場合に劣らない感染防禦力の賦与を認め得た。

(稿を終るに臨み終始御指導並びに御校閲を賜つた恩師植田教授に深甚の謝意を表します。尚併せて終始御助言を賜つた上坂助教授の御好意を感謝致します)

文 献 集

- 1) Coulaud, E : Rev. de la Tbc., 2 : 851, 1934.
- 2) Coulaud, E : Compt. Rend. Soc. de Biol., 119 : 368, 1935.

- 3) Saenz, A : *Compt. Rend. Soc. de Biol.*, 120 : 870, 1935.
- 4) Saenz, A : *Compt. Rend. Soc. de Biol.*, 120 : 1050, 1935.
- 5) Saenz, A : *Compt. Rend. Soc. de Biol.*, 124 ; 338, 1937.
- 6) Saenz, A : *Compt. Rend. Soc. de Biol.*, 124 : 887, 1937.
- 7) Saenz, A : *Compt. Rend. Soc. de Biol.*, 125 : 714, 1937.
- 8) Corper, H.J. & Cohn, M.L. : *Am. J. Clin. Path.*, 12 : 73, 1942.
- 9) Rist, N. : *Ann. Inst. Pasteur*, 61 : 121, 1938.
- 10) 大林・岩崎 : *実験医学誌*, 27: 3, 307, 昭18.
- 11) 岡・山田 : *抗酸菌病研究誌*, 2 : 1, 1, 昭22.
- 12) 岡・山田 : *抗酸菌病研究誌*, 3 : 2, 53, 昭23.
- 13) 岡・山田 : *抗酸菌病研究誌*, 6 : 1, 22, 昭25.
- 14) 橋本達一郎 : *結核*, 26 : 8, 371, 昭26.
- 15) 吉田啓一 : *金沢大学結核研究所年報*, 15 : 下, 309, 昭31.
- 16) Fenner, C.F. : *Advance in Tbc. Research.* 4 : 112, 1951.
- 17) Thomas, R. M. : *J. Exp. Med.*, 58 : 227, 1933.
- 18) Boquet, A. & Laporte, R. : *Compt. Rend. Soc. de Biol.*, 124 : 1159, 1937.
- 19) 金井興美 : *結核*, 26 : 7, 319, 昭26.
- 20) 金井興美 : *日本細菌学誌*, 10 : 6, 499, 昭30.
- 21) 山口登 : *日本細菌学誌*, 11 : 1, 63, 昭31.
- 22) 山口登 : *日本細菌学誌*, 11 : 5, 379, 昭31.
- 23) 金光正次 : *東京医学会誌*, 58 : 7, 451, 昭19.
- 24) 生沼金夫 : *海軍々医会誌*, 33 : 7, 844, 昭19.
- 25) Freund, J. & Casals, J. : *J. Immunol.*, 38 : 67, 1940.
- 26) 柳沢謙 : *日本細菌学誌*, 7 : 3, 147, 昭27.
- 27) 高橋義夫 : *結核*, 27 : 4, 171, 昭27.
- 28) 植田・遠藤 : *東京医事新誌*, 3111 : 3051, 昭13.
- 29) Mayer, A.J. : *J. Am. Med. Ass.*, 16 : 1493, 1951.
- 30) Dienes, L. : *J. Immunol.*, 15 : 153, 1928.
- 31) Dienes, L. : *J. Immunol.*, 17 : 531, 1929.