

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4篇〕 組織内に撒布されたワクチンの状態とその後の推移

（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3篇の実験は、流パラ死菌ワクチンの接種が海猿に顕著な「ツ」アレルギー及び毒力生菌感染に対する防禦力を賦与する能力のあることを示した。多数の研究者は予め上記の如き処置を受けた動物に於て此様な現象が招来される機点に関しては、抗元が局所に固定される事^{(1),(2,3,4,5)}、或は逆に撒布され易い事^{(1),(6),(7)}、或は又、菌体の崩壊吸収が阻止される事⁽⁸⁾、更には又、Adjuvantによつて抗元が抽出され易い事^{(9,10,11),(12)}等に由因するのではないかと推測した。而して流パラ死菌ワクチン接種一定日数後に臓器組織内に於てワクチンが果してどのような状態で存在するかを観察した研究者は極めて少く、しかも之等の研究はワクチン接種長時日後の状態を検討したに過ぎない。然るに前3篇の実験からみれば、流パラ死菌ワクチンと雖も、接種後比較的早期には可成り顕著な「ツ」アレルギーを示すのであるから、此様な時期に於ける流パラ死菌ワクチンの臓器組織内に於ける状態及びその推移こそ詳細に検討されねばならないと考える。

先に上坂⁽¹³⁾が各種ミコバクテリウム生菌に流パラを添加して動物に接種した場合、毒力の表現が種々変化すると云う興味のある研究を発表した。著者はそれにヒントを得て、本篇に於ては死菌体に流パラを加へた場合即ち流パラ死菌ワクチンを海猿に接種した場合、流パラ及び死菌体は相互にどのような関係を保ちつゝ臓器組

織内に撒布され、細胞と果してどのような関係に入り消長するか、その作用機序を日を追つて動物を屠殺剖検し、夫々各種臓器の塗抹並びにImpression smear（圧印標本）を観察し、検討した。

実 験 方 法

流パラ死菌ワクチン及び生食水浮游死菌ワクチンは共に人型F株を用い、何れも前篇と同様の方法で調製した。海猿は体重400乃至600gで、ツベルクリン反応陰性の雄21匹を使用し、これを次の4群に分ち、夫々に各種ワクチンを接種した。即ち、

第1群の動物には夫々流パラ死菌ワクチン100mg/cc宛を左膝髌部皮下に接種し、

第2群の動物は第1の対照として流パラ1ccを左膝髌部皮下に注射し、その直後同じ場所に生食水浮游死菌ワクチン100mg/ccを与えた。

第3群は第2の対照として生食水浮游死菌ワクチン100mg/cc宛を同様に与え、

第4群は第3の対照として流パラ1cc宛を単独に左膝髌部皮下に与えた。

第1群は接種24時間、4、7、10、12、14、21日後に、

第2群は注射24時間及び4日後に、

第3及び4群は注射24時間、4、7、10、14、21日後に夫々1匹宛の海猿を屠殺剖検し、接種局所、淋巴腺、肺臓、肝臓、脾臓の断面の塗抹並びに断面をスライド硝子上に軽く押付けたImpression smear（圧印）標本を作り、チー

ル・ネールセン染色して鏡検観察した。因みに石炭酸フクシンの加温は出来るだけ短かくゆるやかにした。

実験成績

第1群：流パラ死菌ワクチン接種の場合

24時間後には各臓器共その塗抹並びに圧印標本中には既に弱拡大（100×）で多数の油滴を認めた。強拡大では之等の油滴は円形乃至類円形であつて、その大きさは非常に小径のものから大径（90～130 μ ）のもの迄種々であつたが、大多數のものは径 20～50 μ であつた。夫々の油滴によつても他少差異はあつたが、多くの場合多数の抗酸性の菌体は菌塊をなし、或は網目状に集つて密に油滴を被つていた。此様な油滴を離れて乃至は細胞内に貪喰されて存在する菌体は殆んど認めなかつた。而して油滴の周縁には多くの場合に多数の多核球及び少数の単核球が認められた。（第1図）

接種4日後に作つた標本は24時間後のそれと略々類似した所見を示した。此時期には油滴の周縁には多核球が減少し、単核球が増加した。油滴上には多数の抗酸性の菌体が矢張り上記同様の状態で存在しており、油滴を離れて乃至は細胞に貪喰されているものは認めなかつた。

（第2図）

7日後には油滴の状態には変化はなく、上記同様であつたが、油滴上の菌体は多くの場合に油滴の周縁に密集する傾向を示した。又之等の菌体は一般に抗酸性が減じ、少々淡染した。尚此時期には油滴の周縁には多核球は少なく単核球が多数を占めた。（第3図）

10日後には油滴の大きさは上記よりも少々小さくなつたものが多かつた。油滴上の菌体は少々細く且つ短くなる傾向が目立つと同時にその抗酸性も亦弱くなつた。併乍ら、此時期に於ても尚未だ、殆んどすべての菌体は油滴上に存在しており、油滴から離れ乃至は細胞に貪喰されたものは認めなかつた。

12日後の標本では油滴並びに油滴上の菌体の状態は10日後のそれと略々類似したが、菌数は初期に比し可成り顯著に減少した。（第4図）

14日後には尚未だ可成り多数の油滴を認めたが、その大きさは初期のものに比し可成り小さい円形乃至類円形を呈した。比の際油滴上の菌体は顯著に減少した。因みに油滴外或は細胞内には菌体は認めなかつた。

接種21日後の標本に於ては油滴は既に可成り顯著に減少したが、尚一部少数は10 μ 内外の円形乃至は類円形をなして残存した。又大多數の菌体も油滴上で変性崩壊してしまつた。因みに此等油滴の周縁には依然として単核球が蟄集するのが見られた。

第2群：流パラと生食水浮游死菌ワクチンとを別々に同じ場所へ殆んど同時に接種の場合。

接種24時間及び4日後の標本では第1群と同様に油滴は大小種々の大きさの円形乃至類円形のもが細胞外に多数認められたが、それに反して菌体は第1群と異なり、むしろ下記第3群と同様に稀に細胞内か或は細胞外に見出されるにすぎなかつた。而も油滴上には菌体は全く存在しておらず既に細胞に貪喰されつゝある像を認めた。

第3群：生食水浮游死菌ワクチン接種の場合。

24時間後の肺、肝、脾の圧印標本中には多核球が多く、その一部少数が既に抗酸性の菌体を貪喰していた。標本全体からみても、その含有する菌数は到底上記第1群に比すべくもなく、極めて小数であつた。（第5図）

4日後は多核球は既に概ね変性し、単核球が増加した。菌体は未だ明らかに抗酸性を呈し、細胞の内外で小さな集団を形成した。

7日後には菌体の染色性は次第に悪くなつたが併乍ら、尚少数ではあるが小さい集団をなして細胞の内外に存在するのが認められた。（第6図）

10日以後には明らかにそれと判別出来る菌体は既になく、唯、弱抗酸性の顆粒状物が単核球内に存在するにすぎなかつた。

第4群：流パラ単独注射の場合。

臓器組織内の油滴に関する限り、第4群の所見は第1群と全く同様であつた。

考 察

以上の実験結果から、流パラ死菌ワクチンと生食水浮游死菌ワクチンとでは、海猿臓器組織内に於ける菌の消長が非常に相違している事が明らかになった。即ち流パラ死菌ワクチン接種の場合には、接種24時間後に既に非常に多量の菌体が大小の油滴……流パラ滴と断定する……に附着して淋巴腺及び臓器内に撒布されている事が判明した。……此点からみると、菌体は微細な流パラ滴に吸着されて速やかに臓器内に運ばれ、然る後組織内に於て流パラ滴が相互に融合し、菌はその融合した流パラ滴の表面に密集したものと推測される……。此の際殆んど菌体は、此様な組織内の流パラ滴に密接して見出され、流パラ滴を離れて乃至は細胞内に貪食されて存在するものは殆んど見なかつた。其後日数が経過するに従い、流パラ滴は徐々に小形となり、且つその重屈折性を減じはしたが、3週後に於ても尚明らかにそれと判別することが出来た。而して流パラ滴に吸着された無数の菌体は次第に変性し、細く且つ短くなり、その抗酸性も亦漸次弱まり、3週後には菌の観察が困難となつたが、此様な経過中にも流パラ滴の周囲に蟄集した細胞に殆んど貪食されたものを見なかつた。切片標本を用いる事が困難であり、圧印標本を用いた為に詳細を明らかにすることは出来ないが、然し此の様な観察方法によつても、流パラの撒布された組織内に於ては、初期に多核球の遊走が多く、それは間もなく単核球によつて置換へられる事を略々窺う事が出来た。

然るに生食水浮游死菌ワクチン接種の場合は、淋巴腺及び諸臓器に撒布された菌量は上記流パラ死菌ワクチンに比し、顯著に少なかつた。其上此の様な菌の大多数は細胞内にあり、小数のものが細胞外に存在したにすぎなかつた。而も10日前後の後には此等細胞内の菌体も変性崩壊した。圧印標本から窺へば、特別な細胞の多量の遊走はないものゝようであつた。

翻つて、上記2種ワクチンを接種した海猿に於ける「ツ」アレルギーの模様をみるに、前3

篇の実験に見たと同様に、生食水浮游死菌ワクチン接種動物に於ては、個体により時に疑はしい程度の反応を示したに過ぎなかつたが、然るに流パラ死菌ワクチン接種動物では2週内外の後から次第に明瞭な皮膚反応を示した。而して生食水死菌ワクチンでは明瞭な「ツ」アレルギーを惹起させる事は困難であるにもかゝらず、これを流パラを添加して接種すれば強い「ツ」アレルギーを惹起させ得る事は既に広く知られている所である。著者も亦前3篇の実験に於て、此様な流パラ死菌ワクチンが明瞭な「ツ」アレルギーを賦与するのに必要な条件に就て種々検討した。その成績をみるに、結核加熱死菌の流パラ懸濁液（流パラ死菌ワクチン）を使用した場合以外はどのような組合せ（部位或は時を異にし、或は又両物質を懸濁する事なく同一部位に殆んど同時に与えた場合）で用いた場合にも「ツ」アレルギー及び感染防禦力が殆んど発現しないと云う事を確かめる事が出来た。此処で流パラ懸濁液として死菌を与えた場合に限つて「ツ」アレルギーを生ぜしめる事が出来ると云う機序に関しては、先づ Rist⁽¹⁾は抗元が局所に長く溜まると同時に局所を離れて撒布し易い事が此の様な機点の一つと考え、又柳沢・金井^(13,14)は流パラに反応して遊出する単核球によつて菌が臓器に運搬され易くなる事を挙げ、又 Freund and Casals⁽⁶⁾は菌が流パラによつて撒布し易くなると考えるよりも、むしろ流パラが菌の喰菌される事を妨げ、長期間臓器組織内に残存させる役割を果していると推測している。尚又 Choucroune^(9,10,11) 及び Hehre⁽¹²⁾は流パラ中に菌体内の抗元物質が抽出される事に由ると判断している。更に生沼⁽⁷⁾は流パラ死菌ワクチン接種海猿の2週後の肺に就て、流パラ滴の周囲に多数の菌体が集つた状態を観察し、ワクチン中の菌体が附着して運ばれ主として肺に撒布されるものと考えた。而して之等の見解は何れも推測乃至は限られた材料に立脚した考察のように思はれ、これだけでは流パラ死菌ワクチンの特殊な働き方を未だ理解する事は困難である。そこで著者は此等の考へ方を顧慮しつつ海猿臓器組織内での流パラ死菌ワクチンとして

与えられた流パラとワクチンとがどのような経過で臓器組織内に撒布され、臓器組織内に於て相互にどのような関係に入り、更に如何なる細胞が遊出して此の關係に加はるか、それらの点を時日の経過を追つて詳しく観察した。その結果からみれば、先づ最初に注意をひく点は、流パラ死菌ワクチンに於ては生食水死菌ワクチンに比すべくもない顯著に大量の菌体が流パラ滴に吸着運搬されて、臓器組織内に速やかに撒布されると云う事である。

第2に關心を呼ぶ点は、生食水浮游死菌ワクチンでは臓器組織内に撒布された菌体はその殆んどが細胞内に存在するにもかゝらず、流パラ死菌ワクチンに於ては殆んどすべての菌体が細胞に貪喰される事なく流パラ滴に密接して存在する事である。

第3には観察方法の性質上深く触れる事は出来ないにしても、生食水死菌ワクチンに比し、流パラ死菌ワクチンに於ては日数の経過につれて、臓器組織内に単核球の大量の遊出を窺い得る事である。

即ち生食水死菌ワクチンが動物に顯著な「ツ」アレルギーを賦与し難いにもかゝらず、これに流パラ添加して接種する事によつて殆んど誤りなく明瞭な「ツ」アレルギーを賦与する事が出来る機序を解明する拠り所は、上記2種ワクチンの臓器組織内に於けるその態度の相違するという所に求められねばならない。此の事は又、結核加熱死菌と流パラとを懸濁せないで他の方法で接種しても「ツ」アレルギーを惹起し得なかつた第2篇の実験成績をも説明し得るものとする。換言すれば、大量の菌が臓器組織内に撒布され、而もその変性崩壊する全過程の間絶えず流パラと密接な關係に立つと云う点に先づ注意せねばならないと思う。即ち有効な抗元物質が流パラと特別な關係に入る事も考えられ、而も此様な両者の關係の場が無数の単核球によつて密に包まれている事を思へば、上記2者の關係に更に単核球が加はる事を考えなければならぬ。而して此の3者がどのような關係をなしているかと云う事に就ては上記実験の範圍ではこれ以上穿鑿する事は困難であるが、少

くとも上記のような3者の親密な關係が成立し易い事が流パラ死菌ワクチンを与えた動物に於て「ツ」アレルギーの出現し易い事を示唆するものではないかと推察される。之等3者の關係の詳細に就ては尚検討の余地が多いが、上記実験によつて少くとも流パラ死菌ワクチンの特殊な作用機序の一端を窺い得たものとする。

結 論

(1) 流パラ死菌ワクチンと生食水死菌とでは海狸臓器組織内に於ける菌の消長が非常に相違した。前者に於ては後者に比し、より顯著に大量の菌体が流パラ滴に吸着運搬されて、各種臓器に迅速に撒布され、而も生食水死菌ワクチンの菌体はその殆んどが細胞内に貪喰され短時日後に変性崩壊したにもかゝらず、流パラ死菌ワクチンに於ては殆んどすべての菌体が細胞に貪喰される事なく、流パラ滴上に存在しつゝ変性した。尚此の場合には流パラ滴の周縁に大量の単核球を誘致した。

(2) 流パラ死菌ワクチンに於ては流パラと相携えて多量の死菌体が臓器組織内に撒布され細胞に貪喰される事なく、両者は絶えず密接な關係を保ち、此の両者の親密な關係の場に更に多数の単核球が加わり易いと云う事が流パラワクチンの特殊な作用機序の拠り所ではないかと考える。

(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。尚併せて此の研究に御助言を賜つた上坂助教授及び大岩博士に深く感謝します。)

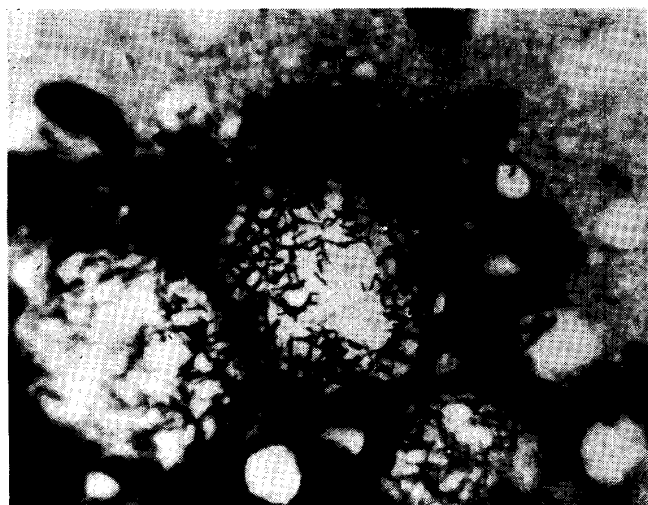
文 献 集

- 1) Rist, N.: Ann. Inst. Pasteur, 61 : 121, 1938.
- 2) 山口登: 日本細菌学誌, 11 : 1, 63, 昭31.
- 3) 山口登: 日本細菌学誌, 11 : 2, 111, 昭31.
- 4) 山口登: 日本細菌学誌, 11 : 3, 185, 昭31.
- 5) 山口登: 日本細菌学誌, 11 : 4, 249, 昭31.
- 6) Freund, J. Casals, J. & Hosmer, E. P.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 37 : 509, 1937.
- 7) 生沼金夫: 海軍々医会誌, 33 : 7, 844, 昭19.

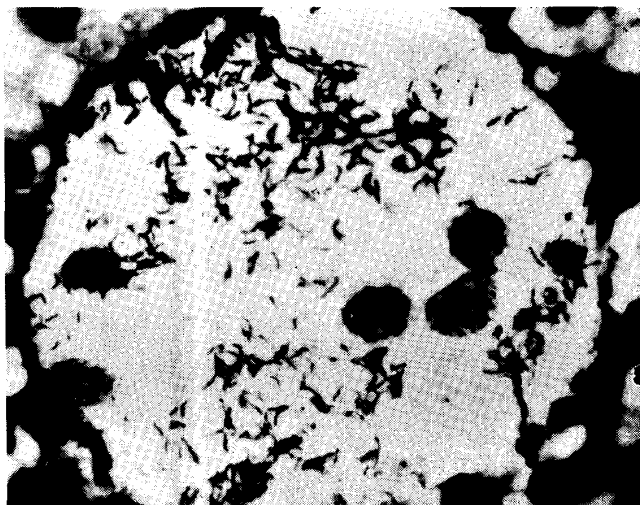
- 8) Freund, J. and Casals, J.: J. Immunol., 38 : 67, 1940.
- 9) Choucroune, N.: Compt. Rend. Acad. d. Sc., 208 : 1957, 1939.
- 10) Choucroune, N.: Compt. Rend. Acad. d. Sc., 210 : 511, 1940.
- 11) Choucroune, N.: Am. Rev. Tbc., 56 : 203,

1947.

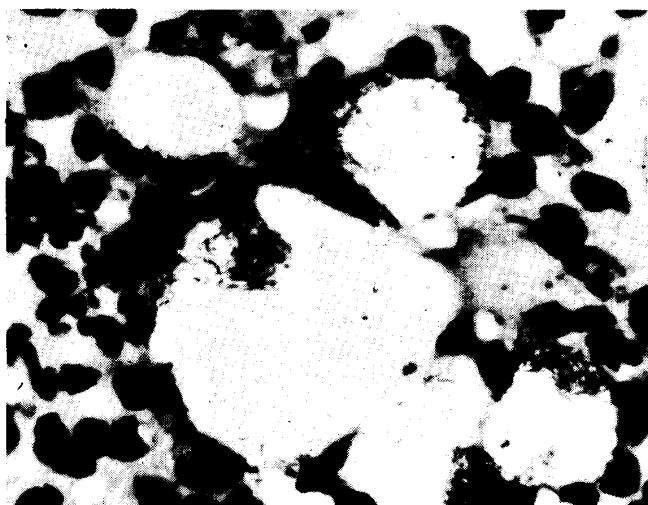
- 12) Hehre, E.: J. Immunol., 36 : 285, 1939.
- 13) 柳沢・金井: 結核, 26 : 6, 289, 昭26.
- 14) 柳沢・金井: 結核, 26 : 7, 319, 昭26.
- 15) 上坂一郎: 第17回日本結核病学会近畿地方会発表, 昭33.



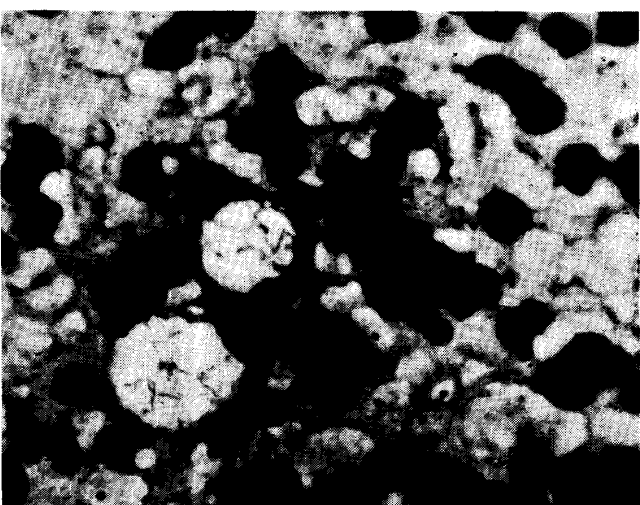
第1図 流パラ死菌ワクチン接種24時間後
(脾臓800×)



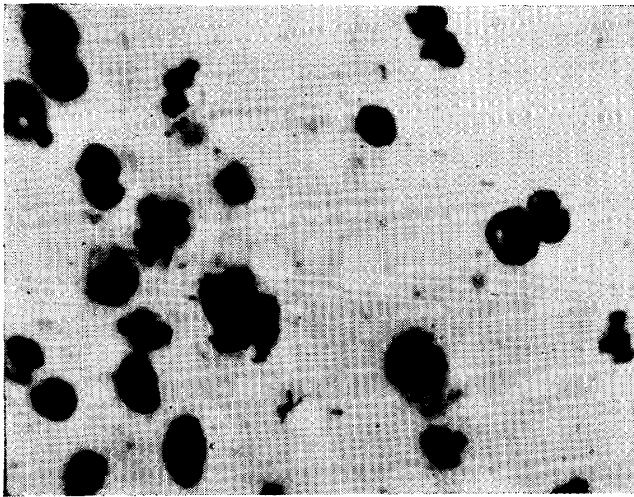
第2図 流パラ死菌ワクチン接種4日後
(脾臓800×)



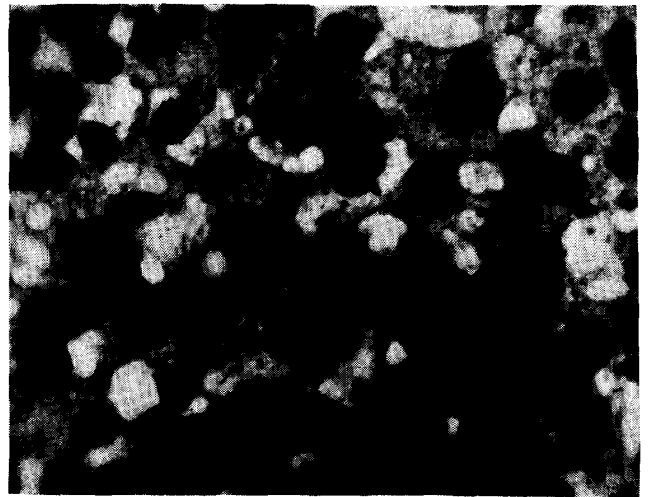
第3図 流パラ死菌ワクチン接種7日後
(脾臓800×)



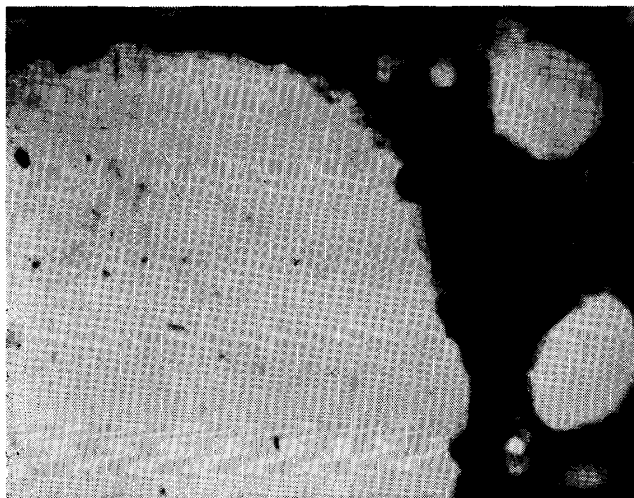
第4図 流パラ死菌ワクチン接種12日後
(脾臓800×)



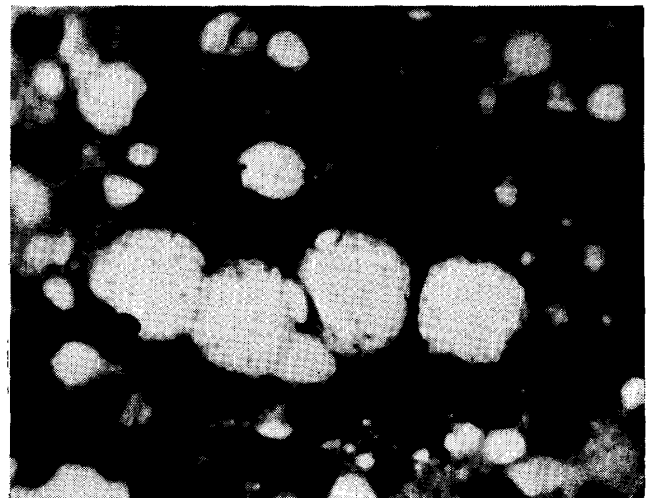
第5図 生食水死菌ワクチン24時間後
(脾臓800×)



第6図 生食水死菌ワクチン接種7日後
(脾臓800×)



第7図 流パラ単独注射24時間後
(脾臓800×)



第8図 流パラ単独注射10日後
(脾臓800×)