

白鼠ヲ以テスル BCG ノ病原性獲得試験

昭和 15 年 3 月 5 日受領)

故 野 中 の ぶ
原 澤 仁 齊
星 加 房 一 郎

緒 言

「パステウル」研究所ノ故カルメット氏ガ 1912 年所謂特殊培地ニ 70 代累代培養ヲナシ、無毒牛型菌ヲ作り得タト稱シ是レヲ動物－人間ニ試験シ、此所ニ 28 年ヲ經過シタリ。該菌株ハ BCG ト云ヒ既－人間ニ應用セラル、ニ至ル今日尙ホ其ノ病原性ノ恢復ニ杞憂ヲ抱ク者アリ、然シ大多數ノ學者ハ該 BCG ヲ唱シテ甚數減毒シタル菌株トナリ再ビ有毒株ニ還元セザルナリト云フ。而シ又タ一定要約ノ元ニ有毒株ニ還元シ得ルト云フ學者モ少數アリ。例ヘバ Petroff (結核血清加卵培地通過ニ依リ) Korschun, Nobel (「モルモット」通過ニ依リ) Hormache (連鏡狀球菌ト共ニ「モルモット」通過ニ依リ) Hutya, Kirchner (角膜通過ニ依リ) Watson (餌食ニ依リ) Ariztia (哺乳兒接種ニ依リ) Much, Garces,

Orellana (卵培地通過ニ依リ) 等ノ如キハ其レデアル。

又タ試験動物ノ種類ニ依テハ其ノ病原性ノ異ナルベキハ當然考ヘラレル所ナリ。會テ渡邊博士ハ大正 15 年以來ノ BCG 病原性及免疫元性ニ就テ檢討シ BCG ハ「ラッテ」ニ對シ病原性ノ比較的強キ事ヲ發表シ (昭和 4 年 7 月結核第 7 卷第 7 號)、其レニ引續キ余等ノ一人原澤ハ之レヲ病理組織學的ニ研究シ其ノ變化ノ家兎及ビ「モルモット」ト異ナレルヲ知り、之レヲ細菌學雜誌第 418 號ニ發表シタリ爾來余等ハ BCG 株ハ白鼠ヲ通過スルコトニ依テ或ハ其ノ病原性ヲ高メ得ルニハ非ラザルヤト其ノ實驗ニ着手シタリ、而シテ本實驗ノ大部分ハ故野中ノぶ子ノ致ス所ナリ。

實驗方法

實驗動物、白鼠(體重 70 乃至 100 瓦)、「モルモット」(體重 300 瓦内外)、家兎(體重 1.5 瓦内外) 使用菌株及ビ接種方法、北里研究所保存後カルメット、グエラン氏特殊培地ニ 21 代累代培養ヲ重ネシ株ヲ、同培地ニ 4 週間培養シタルモノヲ減菌生理的食鹽水 0.5 瓦中 1 瓦及ビ 3 瓦ノ 2 種

ノ菌浮游液トナシ接種ス。之レヲ接種第 1 代ト云フ。白鼠ハ 2 群ニ別チ、1 群ハ菌量 1 瓦ヲ 2 群ハ菌量 3 瓦ヲ尾靜脈内ニ注射ス、注射液量ハ 0.5 瓦トシタリ、「モルモット」ハ 1 瓦ヲ皮下ニ、家兎ハ 3 瓦ヲ耳靜脈内ニ注射ス。

實驗成績

以下記述スル所ノ本實驗ハ各試験動物共接種後 4 週乃至 5 週目ニ剖檢ス、即チ肉眼的竝ニ組織

學的ニ檢査ス、又タ其ノ他 3 瓦接種シタル白鼠ハ各臟器(肺臟、肝臟、脾臟、腎臟)ヲ減菌生理

的食鹽水ヲ以テ乳劑トナシ、「ベトロフ」、「ルベナウ」兩培地ニ培養シ、第 5 乃至第 6 週培養ヲ以テ次代接種ニ使用ス。

1. 1 厖接種白鼠ノ解剖學的所見

第 1 表ニ示ス如ク初代ニ於テハ各臓器共結核性變化ヲ來サズ、唯僅カニ肺臓表面ニ小出血液ヲ認ムルノミ。第 2 代ハ肺臓表面ニ僅少ノ結核結節ヲシキモノヲ認メ、肝臓及ヒ脾臓ハ輕度ニ腫大ス。第 3 代ハ肺臓表面及ヒ切剖面ニ粟粒大結節アリ、處々ニ小出血液ヲ認ム、肝臓ハ腫大シ小葉紋理明カトナル、脾臓モ亦タ腫大ス。第 4 代ニ至レバ肺臓ノ變化更ニ増シ表面及ヒ切剖面共ニ多數ノ結節アリ、肝臓ノ腫大亦タ高度トナル、脾臓ハ腫大シ表面粗糙トナリ暗紫色ヲ呈ス、然シ何レモ其ノ表面及ヒ切剖面ニ結節ヲ認ムル

能ハズ。第 5、第 6、第 7 代ト白鼠ヲ通過スルニ從ヒ臓器ニ於ケル變化常ニ高度ニ現ハル、殊ニ肺臓ニ於テハ粟粒大ノ結節全葉ニ互リ多數生ズルモノアリ、然シ肝臓、脾臓ニ於テハ結節ヲ認メズ。第 8 代肺臓ハ各肺葉全面ニ互リ粟粒大結節アリ切剖面ニ於テモ亦タ多數ヲ認ム、肝臓、脾臓ノ腫大又タ著シク肝小葉ノ紋理著明ナリ、脾臓ハ表面粗シテ顆粒狀ヲナシ暗紫色ヲ呈ス、然シ肉眼的ニハ何レモ結節ヲ認メズ。腎臓ハ各代共ニ肉眼的ニ著明ノ變化ナク、結核結節ヲモ認メズ。

塗抹標本ニ於テハ初代乃至 3 代迄ハ抗酸性桿菌ヲ各臓器ヨリ證明シ得ルモ菌數甚ダ僅少ナルヲ常トス。第 5、6 代ニ至ルト常ニ多數ノ抗酸性桿菌ヲ細胞内外ニ認ム、殊ニ肺臓、肝臓、脾臓ニ於テ然リ。

第 1 表 BCG(1 厖)接種白鼠所見

世 代		肉 眼 的 所 見					組 織 學 的 所 見			
		肺臓	肝臓	脾臓	腎臓		肺臓	肝臓	脾臓	腎臓
第 1 代	結節有無	—	—	—	—	結核變化 抗酸性桿菌	— +	— +	— +	— +
第 2 代	結節有無	+	—	—	—	結核變化 抗酸性桿菌	++ +	— ++	— +	○
第 3 代	結節有無	++	—	—	—	結核變化 抗酸性桿菌	++ ++	++ ++	++ ++	○
第 4 代	結節有無	++	—	—	—	結核變化 抗酸性桿菌	++ +++	++ ++	++ ++	— +
第 5 代	結節有無	+++	—	—	—	結核變化 抗酸性桿菌	+++ +++	++ ++	++ ++	++ ++
第 6 代	結節有無	+++	—	—	—	結核變化 抗酸性桿菌	+++ +++	++ ++	+++ ++	++ ++
第 7 代	結節有無	+++	—	—	—	結核變化 抗酸性桿菌	+++ +++	++ +++	+++ ++	++ ++
第 8 代	結節有無	+++	—	—	—	結核變化 抗酸性桿菌	+++ +++	+++ +++	+++ ++	++ ++

2. 1 厖接種白鼠組織學的所見

初代白鼠、肺臓ハ一般ニ充血シ氣管枝周圍ニ輕度ノ圓形細胞浸潤アリ、肺胞壁ノ處々ニ組織細胞及ビ少數ノ類上皮細胞集簇ス。抗酸性桿菌ハ該部ニ散在性ニ或ハ束狀ヲナシ存ス。肝臓輕度ノ鬱血アリ、グリソン氏鞘及ビ小葉内ニ組織細胞及ビ少數ノ類上皮細胞ヲ認ム、稀ニ結節樣構

造ヲ呈スルモノアリ、抗酸性菌ハ該細胞群中ニ認ム。脾臓鬱血高度ナルモ結節及ビ類上皮細胞群ハ認メズ。抗酸性桿菌ハ極テ少數圓形細胞中ニ有リ、腎臓間質内處々ニ細胞ノ増殖ヲ認ム、而シテ該部ニ極メテ少數ノ抗酸性桿菌ヲ認ム。第 2 代白鼠、肺臓初代ニ於ケルヨリ細胞増殖稍々強ク、類上皮細胞結節ハ僅小ナレドモ之レヲ認ム。抗酸性桿菌ハ該結節中ニ多ク認ム。肝

臓ハ初代ニ於ケルト略々同様ナル像ヲ呈シ定型的ノ結節ハ認め得ズ、然シ抗酸性桿菌ハ多數ニ存ス。脾臓ハ未ダ結節形成ナリ、腫大セル細胞中ニ抗酸性菌ヲ證明スルノミ。

第 3 代白鼠、脾臓ハ類上皮細胞結節稍々増加シ、同結節内ニハ抗酸性桿菌多數束狀トナリ又ハ散在ス。肝臓ハグリソン氏鞘内及ビ肝小葉中ニ類上皮細胞性結節少數ナレドモ此レヲ認め、抗酸性桿菌ハ左結節内ニ或ハ間質内細胞中ニ多數存ス。脾臓ハ組織細胞、類上皮細胞ノ増殖アリ。處々ニ類上皮細胞性小結節ヲ認め、抗酸性桿菌ハ同結節内及ビ結節外組織細胞中ニ少數ナレドモ存ス。

第 4 代白鼠、肺臓ハ病變高度ニ現ハレ大小種々ノ結節ヲ認め、抗酸性桿菌ハ多クハ結節内類上皮細胞中ニアリ塊狀束狀ヲナシ又ハ散在ス。又タ結節外細胞中ニ充滿セルモノモアリ。肝臓ハ血管周圍及ビグリソン氏鞘内ニ細胞増殖著シク、類上皮細胞性結節形成アリ。又タ小葉内ニモ小結節ヲ多數認め、抗酸性桿菌ハ同結節内ニ、又タ間質中ニ増殖セル細胞中ニモ多數存ス。脾臓ハ鬱血高度、小ナル類上皮細胞性結節實質内ニ散在ス、抗酸性桿菌ハ同結節及ビ結節外組織細胞中ニ多數認め。腎臓ハ輕度ノ鬱血及ビ間質ニ細胞増殖アリ、然シ結節ハ認めルヲ得ズ。同細胞内ニハ少數ノ抗酸性桿菌ヲ認めルノミ。

第 5 代白鼠、肺臓ハ第 4 代ニ於ケルガ如ク細胞増殖著明ニシテ結節ヲ多數認め、結節中ニハ巨大細胞ノ存スルモノアリ、抗酸性桿菌ハ各結節内及結節外細胞中ニモ多數認め。肝臓ハ類上皮細胞性結節多數ニ生ズ、抗酸性桿菌ハ結節内或ハ組織細胞中ニ多數認め。脾臓ハ第 4 代白鼠ニ於テ認めタル如キ小結節多數アリ、抗酸性桿菌

モ又タ同様ニ結節内或ハ結節外細胞中ニ認め。腎臓ハ類上皮細胞性小結節少數ナレドモ之レヲ認め、抗酸性桿菌ヲ結節内ニ認め。

第 6 代白鼠、肺臓ハ第 5 代白鼠ト略々同程度ノ結節形成アリ。肝臓及ビ脾臓ハ結節形成著シク、殊ニ脾臓ニ於テハ無數ナリ。抗酸性桿菌ハ各結節内ニ多數認め。腎臓ハ少數ノ結節ト菌トヲ認め。

第 7 代白鼠、肺臓及ビ肝臓共第 6 代白鼠ヨリ稍々高度ノ變化ヲ示シ、菌モ亦多數ニ存ス、殊ニ肝臓ニ於テ然リトス。脾臓ハ第 6 代白鼠ト略々同程度ノ變化ヲ認め。腎臓ハ結節形成少ナキモ抗酸性桿菌ハ中等度ニ證明ス。

第 8 代白鼠、肺臓ハ増殖性變化著明ニシテ、全肺葉ニ互リ類上皮細胞性結節ヲ無數ニ認め、同結節ハ小ニシテ限局性ナリ、中ニハラングハンス氏巨大細胞ヲ存スルモノ有り。抗酸性桿菌ハ塊狀又ハ束狀ヲナシ結節内外ノ細胞中ニ多數存ス。肝臓ハ鬱血中等度ニ有り、星芒細胞増加シ、グリソン氏鞘内ハ細胞増殖高度ニシテ、同部及小葉内ニ類上皮細胞性小結節多數ニ有り、抗酸性桿菌ハ同結節内及ビ結節外細胞中ニアリ、又之レヲ充滿スル細胞モ有り。脾臓鬱血高度ニシテ實質内至ル所ニ類上皮細胞性小結節ヲ認め、抗酸性桿菌ハ各結節中ニ認めルモ、肺臓、肝臓等ニ於ケルガ如ク多數ニ存スルモノ稀レニシテ且ツ散在性ナリ。腎臓ハ間質ニ細胞増殖有リ處々ニ類上皮細胞小結節ヲ認め、抗酸性桿菌ハ結節内ニ束狀ヲナシ或ハ散在性ニ認め。

3. 家兎ノ肉眼的所見

第 2 表ニ示ス如ク初代家兎ハ肺臓表面ニ少數ノ粟粒大灰白色ノ結節アリ、肝臓及ビ脾臓ハ稍々

第 2 表 BCG 接種家兎解剖所見

世 代		肉 眼 的 所 見					組 織 學 的 所 見			
		肺臓	肝臓	脾臓	腎臓		肺臓	肝臓	脾臓	腎臓
第 1 代	結節有無	+	—	—	—	結核變化 抗酸性桿菌	++	+	++	—
							+	+	+	+
第 8 代	結節有無	+++	+	—	—	結核變化 抗酸性桿菌	+++	++	++	++
							+	+	+	+

腫脹スルモ腎臓ニハ變化ヲ認メズ。塗抹標本ニテ肺臓及ビ脾臓、肝臓ヨク少数ノ抗酸性桿菌ヲ認ム。第8代家兎ハ肺臓表面及ビ切剖面ニ灰白色ノ粟粒大結節多數アリ、肝臓ハ腫大シ小葉紋理明カトナル、表面及ビ切剖面ニ少数ナレドモ粟粒大ノ結節ヲ認ム、脾臓ハ輕度ノ腫脹アルノミニシテ結節ヲ認メズ、腎臓ハ肉眼的ニ變化ヲ認メズ。塗抹標本ニ於テハ肺臓、肝臓、脾臓ヨリ少数ノ抗酸性桿菌ヲ認ムルノミ、腎臓ヨリハ此レヲ認メ得ズ。

4. 家兎ノ組織學的所見

初代家兎、全肺胞壁ニ輕度ナルモ細胞増殖アリ、處々ニ大小ノ結節形成ヲ見ル、抗酸性桿菌ハ同結節内ニ僅カニ認ム。肝臓ハ血管附近、グリソン氏鞘及ビ小葉内處々ニ細胞増殖アリ、類上皮細胞性結節ヲ形成ス、抗酸性桿菌ハ結節内ニ僅カニ認ムルノミ。脾臓ハ輕度ノ鬱血及ビ細胞増殖有リ類上皮細胞性結節多數存ス、抗酸性桿菌ハ結節内ニ少数認ムルノミ。腎臓ハ間質ニ細胞増殖處々ニ集簇シ結節様構造ヲ呈スルモノ有リ、抗酸性桿菌ハ同部ニ僅カニ存ス。第8代家兎、肺臓ハ増殖性變化高度ニシテ多數ノ結節ヲ認ム、然シ菌ハ極テ少数ニシテ此レヲ缺ク結節多シ。肝臓ハグリソン氏鞘及ビ血管周圍ニ細胞増殖有リ、類上皮細胞性結節ヲ至ル所ニ認ムルモ抗酸性桿菌ハ同結節内ニ稀ニ認ムルノミ。脾臓ハ輕度ノ充血有リ處々ニ類上皮細胞性結節ヲ認ム、抗酸性桿菌又タ少数ニシテ結節内ニ僅カニ認ムルノミ。腎臓ハ間質内處々ニ細胞増殖有リ、稀ニ結節ヲ形成ス、抗酸性桿菌ハ同結節内ニ稀ニ認ムルニ過ギズ。

5. 8代白鼠ヲ通過シタル BCG ノ「モルモット」接種

8代白鼠ヲ通過シ白鼠ニ對シ病原性ヲ増強セシ

メタル株ノ「ルベナウ」培地ニ1ヶ月培養シタル菌ヲ健常「モルモット」皮下ニ1疋接種シタルニ其ノ成績ハ白鼠ヲ通過セザル前ノ BCG 株ト何等異ナル所ナク只局所ニ滲潤次デ硬結潰瘍トナルモ比較の速カニ治癒シ又接種部ニスラ何等變化ヲ認メザル事多シ故ニ此所ニハ詳細ナル記述ヲ省略ス。

6. 分離培養所見

白鼠靜脈内ニ菌量3疋ヲ生理的食鹽水0.5㏍ニ浮游液トナシ注射シ、4週乃至5週後該白鼠ノ臓器ヨリ分離ヲ試ミタルニ第3表ニ示スガ如ク、初代白鼠ヨリノ分離培養ハ一般ニ菌ノ發育不良ニシテ腎臓ヨリハ培養出來ズ。第2代白鼠ヨリノ分離培養ハ略々第1代白鼠ヨリノ同様ナル成績ナレドモ腎臓ヨリ BCG 菌ヲ分離シ得タリ。第3代白鼠ヨリノ分離培養ニ至テハ稍々良キ發育狀態ヲ示シ、菌集落ヲ多數生ズ。第4、第5代白鼠ヨリノ培養ニ於テハ、一般ニ BCG 菌ノ發育良好ニシテ集落密生シ菌苔ヲ形成ス。殊ニ肝臓、脾臓ヨリ分離シタルモノニ然リ。第7、第8代白鼠ヨリハ分離菌ノ發育旺盛ニシテ何レモ菌苔ヲ形成ス。肺臓ヨリハ屢々雜菌混入ノ爲メ其ノ成績判定不確實ヲ免カレズ。

第3表 BCG(3疋)接種白鼠各臓器ヨリ菌ノ分離培養

世代	第1代	第2代	第3代	第4代	第5代	第6代	第7代	第8代
肺 臓	+	○	++	○	○	○	++	++
肝 臓	+	+	++	++	++	++	++	++
脾 臓	+	+	++	++	++	++	++	++
腎 臓	—	+	+	++	++	++	++	++

備考 各白鼠ハ何レモ BCG 接種後4—5週ノ間ニ殺シ「ルベナウ」、「ベトロフ」培養各5本宛ニ培養シ5週後ノ發育ニ就テ判定ス

結 語

1. BCG ハ白鼠ヲ通過スル事ニ依テ白鼠ニ對

スル病原性ハ増加ス、即チ白鼠通過4代ニシテ

此レヲ明カニ認メ、通過第 6 代以降ニ於テハ高度ノ病變ヲ各臓器ニ認ム。而シテ抗酸性桿菌モ亦タ病變ノ増進スルニ從ヒ各臓器ニ多數證明スルニ至ル、各臓器中病變ノ著シク現ハレルハ肺臓、肝臓、脾臓ニシテ、抗酸性桿菌ハ前二者ニ多數證明スルモ脾臓ハ病變高度ナルニモ係ラズ少ナシ。腎臓ハ結節及ヒ抗酸性桿菌ヲ少數認ムルノミ。

2. 白鼠通過ニ因テ白鼠ニ對シ其ノ病原性ヲ増

強シタル BCG ハ此レヲ家兎ニ接種シー時著明ナル結核性變化ヲ惹起セシムルモ、菌ノ増加ハ認メズ、時日ノ經過ト共ニ菌ハ減少シ遂ニハ此レヲ認メザルニ至ル。即チ家兎ニ對シテハ病原性ノ増強ヲ證明シ得ズ。

3. 白鼠ニ對シ病原性ヲ増強シタル BCG ヲ「モルモット」ニ接種シタルニ、白鼠ヲ通過セザル BCG 接種ニ依ル變化ト何等異ナル所ナク、其ノ病原性増強ヲ證明シ得ザルナリ。