

# Vole Bacillus (Wells) に関する研究

## 第 2 報 免疫元性に関する研究

国立予防衛生研究所 結核部 (部長 柳沢謙)

室 橋 豊 穂・関 又 蔵・高野 嬰 装 男

(昭和 26 年 3 月 27 日受付)

### 1 緒 言

Vole Bacillus の免疫元性に関しては、既に Wells and Brooke<sup>1)</sup>, Griffith and Dalling<sup>2)</sup>, Birkhaug<sup>3)</sup> 等によつて、モルモットや嚙についての実験成績が報告されているが、そのいずれも、Vole Bacillus が相当強い免疫元性を示すことを認め、これによつて賦与された免疫力は、BCG によるよりも一層顕著であると述べており、さらに Wells の最近の報告<sup>4)</sup> では、人体に接種して非接種対照群と結核発病率及び死亡率を比較し、統計学的に有意の差をもつて予防効果を認め得たという。我々も亦免疫元性について BCG との比較研究をモルモットを用いて行つたので、その成績を報告しようと思う。

### 2 実験方法

#### 実験 I

10 倍旧ツベルクリン反応陰性の体重 350~400 gm のモルモット (雄) を、Vole Bacillus 1 mg (5 頭), BCG 1 mg (5 頭), BCG 5 mg (10 頭) 各皮下接種の 3 群とし、接種後 7 週目に対照 6 頭とともに人型結核菌  $H_2$  株 0.01 mg (0.5 cc.) をもつて皮下感染し、感染後 6 週末屠殺剖検、肉眼的に罹患度を比較観察した。

使用した Vole Bacillus は岡・片倉培地 35 日培養のもの、BCG は牛胆加グリセリン馬鈴薯培地からグリセリン水馬鈴薯を経て Santon 培地 2 代目の 10 日培養のもので、ともに手振法により菌液を調製した。

#### 実験 II

前処置群はモルモット 15 頭を 1 群として Vole Bacillus 接種 4 群、BCG 接種 4 群の 8 群を作り、対照群には 20 頭を用いたが、実験条件をなるべく同一ならしめるために、実験当初より前処置群の籠に対照群を 1~2 頭ずつ分散混合飼育した。

実験群	Vole Bacillus 群	BCG 群
接 種 量	0.1 mg	1.0 mg
	0.01 "	0.1 "
	0.001 "	0.01 "
	0.0001 "	0.001 "

前処置 6 週後、人型結核菌  $H_2$  株 0.05 mg (0.5 cc.)

を皮下感染し、感染後 7 週目に屠殺剖検、肉眼的に罹患度を比較観察した。

使用した Vole Bacillus は小川培地 35 日培養のものより、BCG は牛胆汁加グリセリン馬鈴薯培地に継代培養のもの、14 日培養より、それぞれ掻き取つたもので、手振法によつて菌液を調製した。

### 3 実験成績

#### 実験 I

成績は第 1 表に示す如くである。

感染直前すなわち前処置後 6 週目のツベルクリン反応 (100 倍 0.1 cc.) は、Vole Bacillus 群、BCG 群ともに全例 10 mm 以上を呈したが、Vole Bacillus 群の方が稍々強い反応を示した。

有毒菌感染局所は剖検時既に前処置群では殆ど治療していたが、対照群ではなお膿瘍を形成しているものを見た。

#### 剖検所見 :

淋巴腺罹患度は Vole Bacillus 群にては甚だ軽微<sup>5)</sup>、米粒大の腫脹を見たにすぎないが、BCG 群では局所々属淋巴腺の腫脹 (小豆大~豌豆大) 及び乾酪化とその他の淋巴腺の米粒大~小豆大腫脹を示した。しかし対照群に比すれば遙かに軽度である。

臓器の結核結節は、BCG 5 mg 接種群には全く認められず、Vole Bacillus 群と BCG 1 mg 群とに少数に認められたが、対照群に比すればいふ迄もなく著しく軽微である。ただし Vole Bacillus 群の場合には、Vole Bacillus による病変が相当長く存続しうる<sup>5)</sup>のであり、この変化を有毒菌のみに基くものと直ちに判断することは不可能であろう。しかしもし有毒菌による病変であると仮定しても、Vole Bacillus 群の感染防禦力は、BCG 群に匹敵乃至は勝ると見ることが出来る。

#### 実験 II

前処置 6 週後の 100 倍ツベルクリン反応を一括すれば、第 2 表の如くで、0.01 mg 以上の接種では Vole Bacillus 群の方が反応程度が強かつた。

有毒菌感染局所の変化は、前処置群、対照群共膿瘍或



第2表 ツベルクリン反応 (100倍)

実験群	Vole Bacillus				B C G			
接種量 (mg)	0.1	0.01	0.001	0.0001	1.0	0.1	0.01	0.001
頭数	14	11	9	12	12	10	12	10
ツベルクリン反応	10mm以上	8	3	1	1	4	3	4
	9~5mm	5	8	4	10	3	5	7
	4mm以下	1	0	4	1	5	2	1
1頭平均の大きさ (mm)	10.5	8.2	6.0	7.5	6.7	7.5	6.5	7.1

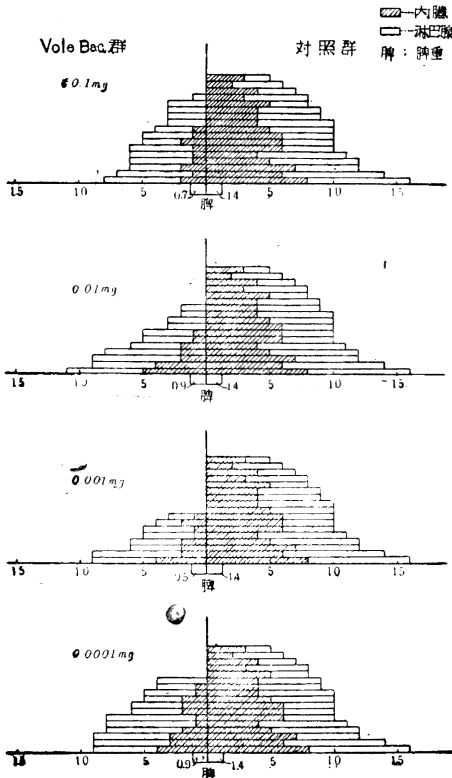
は潰瘍を呈しており大差は見られなかつたが、既に治癒したと思われるものが Vole Bacillus 群には多少多いようである。(但し表中 I は硬結, A は膿瘍, U は潰瘍を示す)

剖検所見 :

第3, 4, 5表に示す如くである。罹患度は両群共接種量の少い方に強かつたが、特に臓器の罹患度は、B C G群に比して Vole Bacillus 群の方が明らかに軽度であつた。第3~5表をヒストグラムで表わせば第6, 7表の如くである。

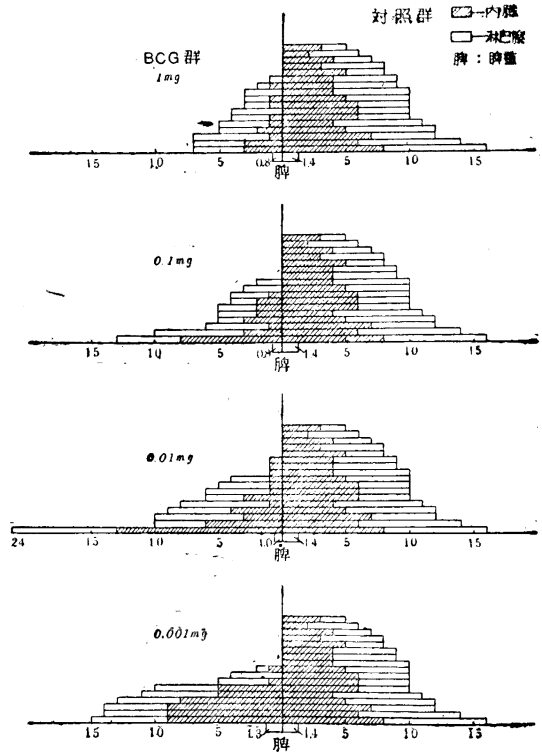
さらに比較を容易ならしむるために、各群1頭平均のリンパ腺及び臓器罹患度を対照群のそれと比較すれば第8表の如くで、同一接種量においては明らかに Vole Ba-

第6表 Vole Bac. 群と対照群との剖検所見比較



cillus 群の方が軽微であつたが、さらに Vole Bacillus 群における接種量別の罹患度の差異は、B C G群の場合よりも少く、なかんずく臓器については明らかである。もし臓器罹患度を防禦力判断の尺度と仮定するならば、B C G 0.001 mg 群では対照と殆ど差異がなく、防禦力が甚だ弱いから、これに対して Vole Bacillus 群では 0.0001 mg でも能く B C G 1.0~0.1 mg 接種群に匹敵しうる防禦力を示したと考えることができる。なおこの場合の計算は、第3~5表について、+=1, +=2, +=3, ……として各群の1頭平均+数を計算し、対照群の+数に対する%を算出したもので、淋臓につい

第7表 B C G群と対照群との剖検所見比較



第8表 各群1頭平均罹患度の比較

実験群	1頭平均淋臓腫脹度 %		1頭平均臓器罹患度 %	
対照	4.9	100	5.0	100
Vole Bacillus	0.1mg	3.8	77	0.8
	0.01	4.1	83	1.5
	0.001	4.0	81	1.4
	0.0001	5.0	102	1.8
B C G	1.0mg	3.1	63	1.1
	0.1	3.5	71	2.2
	0.01	4.7	95	2.7
	0.001	4.2	85	4.7





第3表 Vole Bacillus 接種群の剖検所見 (六)

接 種 荷 重	No.	0.0001 mg											
		49	50	51	52	54	55	56	57	58	59	61	63
感 染 直 前	ツ	8×8	9×9	7×7	9×9	5×5	8×8	9×9	7×7	4×4	11×11	7×7	5×5
剖 検 直 前	ツ	20×22	18×18	11×12	20×20	20×23	17×17	16×23	18×25	18×26	20×20	14×20	18×19
体 重 増 加	加	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
局 所	所	U	U	A	U	U	U	U	A	U	U	U	U
腺	左	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	右	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	+	⊕	⊕	⊕	⊕
鼠 腺	左	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	右	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
腋 腺	左	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	右	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
後 腹 膜	左	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	右	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
脈 管	左	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	右	⊕	+	+	⊕	+	+	+	+	+	+	+	+
胸 骨	左	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	右	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
肺 臓	左	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	右	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
肝 臓	左	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	右	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
脾 臓	左	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	右	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
腎 臓	左	0.9	1.1	1.1	1.1	0.7	1.1	1.0	0.8	1.4	0.9	0.7	1.0
	右	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ては腫脹の程度を、臓器については結節数をそれぞれ表わすものである。

4 総 括 考 按

Wells and Brooke<sup>1)</sup> (モルモット), Griffith and Dalling<sup>2)</sup> (モルモット及び齧), Birkhaug<sup>3)</sup> (モルモット)等の行った感染防禦実験では、いずれも著しい防禦効果を示しているが、モルモットに対する免疫量は比較的多く、0.1mg (Wells and Brooke) から 12mg (Griffith and Dalling) の間にあつた。Wells 等及び Birkhaug の、有毒菌 0.000001 mg を感染した成績では、Vole Bacillus 2mg 接種群の病変はBCG 30mg 接種群よりも遙かに軽微で、免疫元性において Vole Bacillus がBCGより著しく優れていることを示しているが、Birkhaug の場合には、BCG が3週培養のものであるから、菌膜としてはかなり陳旧であり、BC

Gワクチンとして力価が減弱していたであろうことが考慮されなければならない。さらにまた感染防禦力の比較に対してこのような大量の菌をもつて免疫することは、その差異を見るためにはあまり適当でないように思われる。

従つて我々は実験Iにおいて 1mg Vole Bacillus 接種群と、1mg 及び 5mg BCG 接種群とを比較し、Vole Bacillus 群に種々強い免疫状態をきたすことを認めたので、ついで実験IIにおいては、さらに免疫量を減少して Vole Bacillus (0.1~0.0001 mg) 4群を、その 10 倍量接種の BCG 4群 (1~0.001 mg) と比較したのであるが、BCGは従来の我々の経験から免疫元性の最も強いと思われる牛胆汁加グリセリン馬鈴薯培地地上のものを使用したに拘らず、明らかに Vole Bacillus よりも劣り、なかんずく臓器罹患度においては、Vole









Bacillus 0.0001 mg が BCG 1.0~0.1 mg に匹敵したのである。

この成績から、Vole Bacillus は BCG よりも免疫元性において勝ると考えることができるが、この場合、BCG菌液の生菌量が  $10^{-4}$  mg 接種で 55 個、 $10^{-5}$  mg 接種で 9.3 個であつたからそれ程優秀なものでなかつたと思われるのであり、このような著しい差異を表わした一つの原因として考慮する必要があるかも知れない。

第1報に述べたように、Vole Bacillus は BCG に比して毒力が稍強いが、1 mg ではモルモットに進行性病変を起さしめ得ず、且つ抗元性においても勝っているが、さらに本実験の成績からみても、感染防禦力において明らかに BCG に勝つていると考えることができる。この点は強力な結核予防ワクチンとして Vole Bacillus が囑目されるに至つた所以であろう。Vole Bacillus が今後結核予防のために実際に使用されるに至る迄には、なお毒性、なかんずく動物通過等による毒性復帰の有無や、さらにまた免疫元性などについての実験が数多く慎重に重ねられなくてはならぬことはもちろんである。しかし乍ら先人諸家や著者等によつて示された毒力及び免疫元性に関する実験成績よりすれば、これがもしワクチンとして使用され得る場合には、BCG に対するよりも多くの期待をこれに懸けうるのではあるまいかと考えるのである。

## 5 結 論

Vole Bacillus 及び BCG をそれぞれ接種したモルモットを有毒人型結核菌 H<sub>2</sub> 株をもつて感染し、感染後 6~7 週後剖検して罹患度を比較した。

1. Vole Bacillus 1 mg 接種群の淋巴腺罹患度は BCG 5 mg 接種群よりも明らかに軽微であり、臓器に少数の結節を認めたにすぎない。

2. Vole Bacillus 0.1 mg, 0.01 mg, 0.001 mg, 0.0001 mg 接種群は、BCG 1.0 mg, 0.1 mg, 0.01 mg, 0.001 mg 各接種群に比して、同一接種量では罹患度が明らかに軽微であつたが、内臓罹患度のみを特に比較すれば 0.0001 mg 接種にても BCG 1.0~0.1 mg 接種に匹敵しうる防禦力を示した。

3. 従つて Vole Bacillus の免疫元性は BCG よりも強いと考えることができる。

本研究は文部省科学研究費によつて為された。総合研究結核委員会委員長今村博士、細菌科会長戸田博士に謝意を表す。

本報告の要旨は昭和 25 年及び 26 年の日本細菌学会総会並びに結核研究委員会において報告されたものである。

摺筆に臨み御校閲を賜つた柳沢博士に謝意を表する。

## 文 献

- 1) Wells and Brooke : Brit. Journ exp. Path. Vol 21, p. 104~110, 1940
- 2) Griffith and Dalling : Journ. of Hyg. Vol 40, p. 673~680, 1940
- 3) Birkhaug : Am. Rev. Tbc. Vol 53, p. 411~426, 1946
- 4) Wells : Lancet, 1, July 9, p. 53, 1949
- 5) 室橋豊穂, 関又蔵, 高野袈裟男 : 結核 26 卷 6 号 (1951)掲載。