

## BCG 菌株に関する研究

## 第3報 日本株, アメリカ(R)株及びフランス株の免疫元性について

国立予防衛生研究所結核部 (部長 柳沢 謙)

室橋豊穂・関 又蔵・高野袈裟男

(昭和27年2月27日受付)

## 1 緒 言

日本, アメリカ (Rosenthal) 及びフランスで保存されている BCG 菌株の培養上の諸性状や毒力については既に報告した<sup>1)2)</sup>。天竺鼠に対する毒力には全く差異を認めることができなかったが, 菌体の大きさや染色状態等の差異が, 免疫元性に何等かの差異を現わすか否かを比較するために感染防禦実験を行ったので, その成績を報告しようと思う。

## 2 実験方法

各菌株とも Sauton 馬鈴薯培養から菌をとり, 菌液を作製した。

実験 I Sauton 馬鈴薯初代2週培養の BCG をとり, 手振法により 10mg/cc の菌液を作製した。

予め Römer 反応陰性なることを確かめた天竺鼠40頭を4群に分ち, それぞれ日本株群・アメリカ (R) 株群・フランス株群及び対照群とし, それぞれの群にそれぞれ

の菌株を1頭宛 0.5cc(5mg) 皮下接種した。6週経過後人型結核菌 H<sub>2</sub> 株 0.1mg を以て皮下感染し, 感染後6週末に屠殺剖検, 罹患度を比較した。

実験 II Sauton 馬鈴薯2代, 2週培養の BCG をとり手振法により各菌株毎に 10<sup>-1</sup>~10<sup>-3</sup>mg/0.1cc の菌液を作製した。各株毎に30頭の天竺鼠を用意し, 10頭を1群として 10<sup>-1</sup>~10<sup>-3</sup>mg を皮内接種した。接種後6週目に対照10頭とともに人型結核菌 H<sub>2</sub> 株 0.05mg を以て皮下感染し, 6週経過後屠殺剖検し, 罹患度を比較した。接種に用いた BCG 菌液は, 接種と同時に小川培地にその 10<sup>-5</sup>mg 及び 10<sup>-6</sup>mg を接種し, 感染防禦力と生菌量との相関の検討に資した。

## 3 実験成績

実験 I 体重の増減, 感染局所変化及び剖検所見は第1表の如くである。比較を簡単ならしめるために, 実験群天竺鼠1頭宛のリンパ腺及び臓器の罹患程度を対照

Table 1. Results of Protective Test.

B. C. G. inoculation; 5 mg  
Virulent infection; 0.1 mg of H<sub>2</sub> strain.

Strains Inoculated		Japanese						American (R)						French						Control											
Guinea-pig No		173	174	175	176	178	179	180	152	154	155	157	158	159	160	132	133	134	135	136	137	138	139	141	697	678	699	700	701	702	704
T+R Before Inocul <sup>(mg)</sup>		16	16	21	20	17	17	21	21	22	23	21	21	25	20	27	18	22	22	23	15	10	22	19	0	0	0	0	0	0	0
Body weight increase		10	60	70	20	140	40	20	150	160	110	230	50	30	140	100	110	80	180	200	20	20	250	260	160	10	110	60	160	100	170
Local Site		- u u - - u A -						- u u u A - u -						- A u u - A A A -						- u A u u u u u											
Autopsy findings	Lymph-nodes	Knee-fold	- - - - -						- - - - -						- - - - -						- - - - -										
		Inguinal	- ⊕ ⊕ ⊕ ⊕ ⊕ ⊕						- ⊕ ⊕ ⊕ ⊕ ⊕ ⊕						- ⊕ ⊕ ⊕ ⊕ ⊕ ⊕						- ⊕ ⊕ ⊕ ⊕ ⊕ ⊕										
		Axillary	- - - - -						- - - - -						- - - - -						- - - - -										
		Retro-peritoneal	- - - - -						- - - - -						- - - - -						- - - - -										
		Portal	- + + - + ⊕ ⊕						- + + - + ⊕ ⊕						- + + - + ⊕ ⊕						- + + - + ⊕ ⊕										
	Viscera	Lung	- - - - -						- - - - -						- - - - -						- - - - -										
		Liver	- - - - -						- - - - -						- - - - -						- - - - -										
		Spleen	- - - - -						- - - - -						- - - - -						- - - - -										
		Kidney	- - - - -						- - - - -						- - - - -						- - - - -										
		Sp. weight	0.9	0.7	1.0	0.8	1.0	0.8	0.6	0.9	1.3	0.5	0.9	1.1	0.8	1.4	0.9	2.0	0.8	1.1	1.0	0.8	1.1	1.0	0.8	3.0	2.6	2.3	2.3	1.9	1.7

群1頭宛のそれに対する100分率で表わせば次の如くで、アメリカ(R)株群とフランス株群とでは殆んど差異がなく、日本株群がこの両者にやや勝っている。

実験群	リンパ腺	臓器
日本株群	51%	3%
アメリカ(R)株群	62	13
フランス株群	64	10

実験II成績は第2~4表に示す如くである。

BCG接種量の多い群は少ない群よりも一般に罹患度は軽いが、この接種量差による罹患度の差は日本株群では他の2株の場合よりも明瞭にみとめられた。同一接種量についてみると、0.01mgを除けば、日本株群が殊に臓器については一般に軽微であつた。実験Iと同様にリンパ腺及び臓器の罹患度を表わせば次の如くである。

実験群	0.1mg		0.01mg		0.001mg	
	リンパ腺	臓器	リンパ腺	臓器	リンパ腺	臓器
日本株群	53%	6%	70%	20%	64%	24%
アメリカ(R)株群	78	23	61	12	64	43
フランス株群	58	33	63	23	86	79

なお本実験に使用した菌液の生菌単位(viable unit)は(次表)

接種量	日本株	アメリカ(R)株	フランス株
10 <sup>-5</sup> mg	55	0	0.2
10 <sup>-6</sup> mg	12	0	0

で、アメリカ(R)株及びフランス株は著しく成績が不良であつた。日本株自体も通常の液体ワクチンの成績よりも不良であるため或いは培地の影響に由るのではないかと考えて、更に小川培地及びCorper培地に同時に接種比較したところ、日本株と他の2株との間には明らかに生菌単位の差が認められた。10<sup>-5</sup>mgの成績から1mg中の生菌単位を推定すれば、日本株は5.5×10<sup>6</sup>個、フ

培地	Corper		小川	
	10 <sup>-5</sup> mg	10 <sup>-6</sup> mg	10 <sup>-5</sup> mg	10 <sup>-6</sup> mg
日本株	9.3	2.3	70.0	12.3
アメリカ(R)株	0.3	0.7	5.0	0.7
フランス株	1.3	0.7	2.3	3.0

ランス株は2×10<sup>4</sup>個、又再度の検査成績から見るならば日本株は7×10<sup>6</sup>~1.23×10<sup>7</sup>個、フランス株は2.3×10<sup>5</sup>~3.0×10<sup>6</sup>個、アメリカ(R)株は5×10<sup>5</sup>~7×10<sup>5</sup>個となり、日本株が最も生菌単位が多く、アメリカ(R)株が最も少なかった。

4 総括考按

第2報に述べたように、毒力試験においては殆んど差

Table 2. Results of protective Test.  
B.C.G. inoculation; 0.1mg  
Virulent infection; 0.05mg of H2 strain

BCG Strains Inoculate		Japanese					American (R)					French					Control													
Guinea-pig No		213	214	215	218	220	221	242	243	245	246	247	248	249	250	251	273	276	277	278	280	281	651	654	655	657	659	661	662	663
TBR Before Infection		13	15	12	14	15	19	10	16	15	11	11	8	9	16	12	10	14	12	10	9	10	0	0	0	0	0	0	0	0
Body weight increase		4.20	4.20	4.0	3.10	2.40	3.20	3.0	2.30	2.0	3.0	2.30	2.80	1.00	1.90	1.60	3.00	1.70	0	3.0	2.0	2.0	1.00	0	2.0	1.0	2.0	1.0	1.0	1.0
Local site		U	U	U	U	U	U	A	U	A	U	U	A	U	U	U	-	U	A	U	A	-	U	A	U	U	A	U	A	U
Autopsy findings	Lymph-nodes	Knee-fold	I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
			P	⊕	⊕	⊕	⊕	+	+	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
		Inguinal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Axillary	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Retro-peritoneal	I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	P	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
	Portal	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Tracheal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Retrosternal	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Viscera	Lung	I	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
P			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
Liver		-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Spleen		-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kidney		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Sp. weight (g)		1.1	2.0	1.0	1.8	1.4	1.2	1.0	1.0	2.4	1.4	1.0	1.3	1.7	1.0	1.2	2.0	1.2	1.5	0.8	2.2	1.1	1.4	1.7	2.6	1.8	1.6	2.5	1.5	1.6

Table 3. Results of Protective Test.  
 B.C.G. inoculation; 0.01 mg  
 Virulent infection; 0.05 mg of H2 strain.

BCG Strain Inoculated		Japanese								American(R)						French										
Guinea-pig NO		222	223	224	225	227	228	229	231	252	253	256	257	258	260	261	282	283	284	285	286	287	288	289		
T.B.R. Before Infection <sup>(mg)</sup>		12	10	11	10	13	0	9	11	11	8	11	5	0	0	6	0	11	9	5	6	8	7	13		
Body Weight Increase		†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†		
Local Site		U	A	U	A	A	A	U	A	U	U	U	U	U	U	U	A	A	U	U	A	-	A	A		
Autopsy-findings	Lymph-nodes	Knee-fold	l	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
			r	⊕	⊕	⊕	+	⊕	+	⊕	⊕	⊕	⊕	+	⊕	⊕	⊕	+	⊕	⊕	⊕	-	⊕	-	⊕	
		Inguinal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Axillary	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Retro-peritoneal	l	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			r	+	+	+	+	+	+	⊕	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	⊕	+	+	+	⊕
		Portal	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	
	Tracheal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Retrosternal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
	Viscera	Lung	l	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
r			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Liver		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Spleen		-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+		
Kidney		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Sp. weight (g)		1.1	2.0	0.9	0.8	0.7	2.3	1.1	1.8	2.3	2.2	3.0	2.0	1.0	0.9	1.5	1.3	2.3	1.6	1.5	2.3	1.2	1.7	1.5		

Table 4. Results of Protective Test.  
 B.C.G. inoculation; 0.001 mg  
 Virulent infection; 0.05 mg of H2 strain.

BCG Strain Inoculated		Japanese								American(R)						French											
Guinea-pig NO		233	234	235	236	237	238	239	240	241	262	263	264	265	266	267	268	269	270	271	284	285	286	287	288	300	
T.B.R. Before Infection <sup>(mg)</sup>		7	0	10	10	8	8	10	0	13	5	8	6	6	10	7	0	12	8	10	6	10	11	10	6	5	
Body-weight Increase		†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	
Local Site		U	U	A	U	-	U	U	U	A	U	A	A	U	U	U	A	-	U	A	A	U	U	A	U	U	
Autopsy-findings	Lymph-nodes	Knee-fold	l	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
			r	⊕	⊕	⊕	⊕	+	⊕	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
		Inguinal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Axillary	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Retro-peritoneal	l	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			r	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	+
		Portal	⊕	⊕	+	+	-	+	+	+	+	+	-	⊕	⊕	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	+	+
	Tracheal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Retrosternal	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Viscera	Lung	l	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-
r			+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	
Liver		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-		
Spleen		⊕	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	⊕	+	+	+	⊕	+	-	⊕	-	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	
Kidney		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Sp. weight (g)		3.8	1.1	1.3	1.4	1.2	1.3	0.9	1.8	1.5	1.8	1.2	2.7	1.7	2.6	1.6	1.7	1.0	1.0	1.2	1.5	2.0	1.4	2.0	2.0	2.0	

異を示さなかつた3菌株が、本実験においては免疫程度に多少ではあるが差異を生じたことは意味ある所見である。実験Ⅰのように大量(5mg)を接種した場合でもその差は認められたが、実験Ⅱのように少量( $10^{-1}$ ~ $10^{-3}$ mg)接種の場合にも同様に罹患度の差異が認められ、しかも同時に行つた菌液の定量培養成績から、日本株の菌液が他の2株よりも10~100倍程度に多くの生菌単位を含んでいたということが直接罹患度の多少に影響しているように思われるからである。

われわれは実験条件を能うる限り近似せしめるために、各菌株とも同様好適な発育を営むと思われるSauton馬鈴薯培養の菌を用い、その1週及び2週培養から、全く同一人が同一方法によつて均等な菌液を作製したにもかかわらず、前述のような差異が何故現われたかを考察してみる必要があると思う。

同一方法によつて作られた菌液の生菌単位が菌株間において何故相違するか。これは定量培養に用いた小川培地に対する適応性如何と、菌液作製条件の菌に及ぼす影響との二つに分つて考えなければならぬと思う。

日本株以外の2株に対して小川培地は不適当なかもしれぬと考えたので、Corper培地と小川培地とに同一条件で作製した3株の菌液を接種してみたが、前述のように、日本株はやはり他の株よりも多量の生菌単位を含むことを示した。この成績は、感染防禦実験の成績とよく一致している。しかし定量培養成績による生菌単位の差異については、更に培地を変え、PHを変えて実験してみなくてはならないが、感染防禦実験の成績からするならば、それ等の菌液中には実際に生菌量が少なかつたのであろうと想像されるのである。

何故生菌量が少ないのか、ということは分析が難かしいが、水晶球を混じて行う手振法という作製方法による機械刺戟が、特に日本株以外の2株には強く作用した。

すなわち日本株が最も強い抵抗力を持つていたためであろうこと、又、菌の発育相が、3菌株とも区々であるために、日本株では偶然最も生菌量の多い相を、他の株ではしからざる相を捕えたのではあるまいかという二つが考えられる。これ等の点については本実験のみに立脚しては結論できないが、発育相を追求し、又菌液作製条件を吟味することも又必要であろう。

菌体の大きさの差異は、勿論一定菌重量中の生菌単位の差となつて現われるが、定量培養による生菌量の差異をきたす程の大きな差異ではない。従つて又感染防禦力に差異を来さしめる程の差異でもない。又染色性の差異も、菌の活力に直接関係すると考えられ、従つて菌液作製時の生菌量減少に対する一因子ともなりうるであろうが、これは未知の問題である。

## 5 結 論

日本株、アメリカ(R)株及びフランス株のSauton馬鈴薯培養から菌液を作り、天竺鼠に接種し、感染防禦力を比較した。

各菌株5mgを皮下接種した場合も、 $10^{-1}$ ~ $10^{-3}$ mgを皮内接種した場合も、日本株群は他の菌株群に比して罹患度が軽く、使用した菌液の生菌量もこれと一致して最も多かつた。

摺筆に臨み柳沢部長の御校閲を謝す。

本研究は文部省科学研究費補助によつてなされ、総合研究結核研究委員会、予研、伝研集談会において報告された。委員長今村博士・科会長戸田博士に謝意を表す。

## 文 献

- 1) 室橋豊穂・関又蔵・高野袈裟男・吉田幸之助：結核，27巻，6号，300~305，1952.
- 2) 室橋豊穂・関又蔵・吉田幸之助；結核，27巻，8号，429~431，1952.