

# BCG に対する超音波の影響に関する研究

## 第2報 動物実験の成績

北海道大学結核研究所

高橋 義夫

(昭和 27 年 2 月 1 日受付)

### 1 まへがき

BCG に超音波を作用させると、動物実験の場合も人体に接種した場合も、膿瘍の局所変化が著しく減弱し、しかも、動物実験の場合には、短時間の超音波の作用は BCG の免疫力にさしたる影響を与えないことが報告されている。本事実の機転に関しては未だ明確な説明がないようであるが、余等もまた、まず本事実を観察する目的で動物実験を行った。

### II 実験方法

まず瑪瑙乳鉢手摺法で BCG 菌液をつくり、これに時間的に色々な程度に超音波を作用せしめ、その各々一定量を健康成熟海豚の腹部皮下に接種し、先ず局所変化及び「ツ」反応の消長を観察し、次いで有毒人型結核菌を接種して免疫効果を比較観察した。記載の方法は次の通りである。

1) BCG 及び有毒人型結核菌接種部位の変化の記載の方法：

-：全然変化が認められないもの、±：弱度の変化が認められるが、注射に原因するものかどうか明確に判別できないもの、+：米粒大変化、±：小豆大変化、冊：大豆大変化、冊：豌豆大変化、冊：ソラ豆大変化以上

記号の横に P とあるのは変化が浅在性で扁平の感のもの、G は潰瘍に移行したことを示す。

2) 「ツ」反応、反応変化の記載方法：

発赤と硬結の外縁の中間部を取り、最大最小径を測定してその平均値を出し、以下の方法で陽性度を記載した。注射後 24 時間判定。

-：全然反応変化のないもの、±：発赤は或程度認められるが硬結が全然認知できないもの、或いは変化が微弱でツベルクリンに原因するものかどうか判定に苦しむもの、+：平均値 10 までのもの、±：11~15、冊：16~20、冊：21以上、Bt：出血、N：壊疽

3) 動物解剖時における病変記載方法：

淋巴腺腫脹の記載方法：

+：米粒大乃至小豆大、±：大豆大乃至豌豆大、冊：ウズラ豆大、冊：ソラ豆大以上

臓器病変の記載方法：結節数、剖面及び表面の性状を

考慮して次の如く記載した。

±：結節様のものが 1~2 箇認められるが明らかに結核結節かどうか判定できないもの、+：結節少数(算

第1表 局所変化及びツベルクリン反応成績(その1)

群別	番号	局所変化					ツベルクリン反応									
		3/x	7/x	14/x	28/x	5/x	7/x	14/x	28/x	5/x	7/x	14/x	28/x	5/x	7/x	
10分	1	冊	冊	±	冊	冊	G	-	±	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	2	冊	冊	±	冊	冊	冊	+	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	3	冊	冊	±	冊	冊	G	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	4	冊P	±	-	±	冊	G	+	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	5	冊P	±	-	-	冊	冊	-	±	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	6	±	±	-	冊	冊	冊	+	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	7	-	±	-	冊	冊	冊	±	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	8	冊	冊	冊	冊	冊	G	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	9	冊P	±	+	冊	冊	冊	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	10	冊P	冊	-	冊	冊	冊	+	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
20分	11	-	-	-	-	-	-	±	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	12	-	-	-	-	-	-	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	13	-	-	-	-	-	-	-	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	14	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±
	15	+	-	18/x	/	/	/	-	死	/	/	/	/	/	/	/
	16	-	-	12/x	/	/	/	-	死	/	/	/	/	/	/	/
	17	-	-	-	-	-	-	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	18	+	-	-	-	-	-	±	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	19	+	+	-	-	-	-	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	20	-	-	-	-	-	-	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
40分	21	-	-	-	-	-	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	22	+	-	-	-	-	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	23	18/x	/	/	/	/	/	死	/	/	/	/	/	/	/	/
	24	-	-	-	-	-	-	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	25	-	14/x	/	/	/	/	死	/	/	/	/	/	/	/	/
	26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	27	+	+	-	-	-	-	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	28	+	-	-	-	-	-	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	29	+	-	-	-	-	-	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	30	冊	-	-	-	-	-	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
50分	31	+	+	+	+	+	-	±	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	32	-	-	-	-	-	-	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	33	+	-	-	-	-	-	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	34	-	-	-	-	-	-	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	35	冊	冊	冊	冊	冊	冊	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	36	-	-	-	-	-	-	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	37	+	-	-	-	-	-	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	38	-	-	-	-	-	-	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	39	-	-	-	-	-	-	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	40	-	-	18/x	/	/	/	死	/	/	/	/	/	/	/	/
30分	41	+	冊	-	-	-	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	42	冊	冊	冊	冊	冊	冊	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	43	-	-	-	-	-	-	死	/	/	/	/	/	/	/	/
	44	冊	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	45	+	-	-	-	-	-	死	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	46	+	14/x	/	/	/	/	死	/	/	/	/	/	/	/	/
	47	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	48	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	49	冊P	-	-	-	-	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	50	冊	冊	-	-	-	-	-	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊

定容易), #: 結節やや多数, ≡: 結節多数, ≡≡: 結節無数

III 実験成績

実験 A

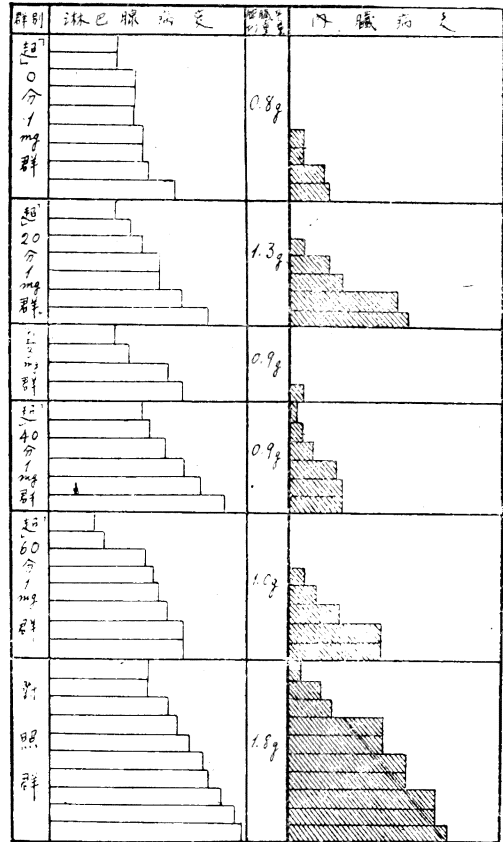
本実験においては超音波を各々0, 20, 40, 60分作用せしめたものの1mgを各々1群10匹宛の海狸の右側部皮下に接種し, 同時に超音波20分作用せしめたもの3mgを同じく10匹の海狸に接種した。接種後46日目に有毒結核菌H<sub>2</sub>株0.03mgを全実験動物に皮下接種して結核に感染せしめ, 同時に無処置の海狸10匹を同様結核に感染せしめて対照とした。結核感染後65日目に全動物を解剖して病変を比較した。その成績は第1, 2表及び第1図の通りである。第1図は比較観察の便宜上第2表の結核病変の度合を各動物毎に面積で現し, 病変の重症のものから順に重ねたものである。

第1表に見られる如く, 超音波20分以上作用せしめたものの実験群においては, 注射局所の反応は殆んど認められないか, 或いは認められても潰瘍に移したものは

1例もなく全部吸収されてしまつた。超音波20分作用菌液3mgの接種を受けた群においては1mgの接種を受けた群よりも局所変化は強度であつたが超音波無作用の菌液の接種を受けた群と比較すると著しく軽度であつた。

各実験群間の「ツ」反応変化の差異は局所変化の差異程顯著ではなかつたが, 傾向は大體それと同じで, 超音波無作用菌液1mg接種群において最も強度であつた。

第1図 動物解剖所見比較図(その1)



第2表 動物解剖所見(その1)

群別	巻号	淋 巴 腺 病 変										内 臓 病 変				
		左腋窩腺	右腋窩腺	左鎖乳腺	右鎖乳腺	左腋窩腺	右腋窩腺	後腹股腺	門脈腺	肺腺	肝腺	脾腺	脾(重量)	腎	月	
超0分1mg群	1	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	2	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	3	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	4	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	5	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	6	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	8	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	9	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	10	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	11	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
超20分1mg群	12	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	13	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	17	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	18	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	19	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	20	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	21	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	22	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	23	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	24	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
超40分1mg群	25	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	26	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	27	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	28	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	29	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	30	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	31	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	32	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	33	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	34	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
超60分1mg群	35	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	36	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	37	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	38	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	39	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	40	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	41	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	42	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	43	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	44	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
対照群	45	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	46	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	47	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	48	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	49	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	50	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	51	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	52	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	53	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
	54	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	
55	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡		
56	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡		
57	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡		
58	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡		
59	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡		
60	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡		

註; 20番は結核以外に他の細菌感染があつた

解剖時における病変は超音波無作用菌液1mg接種群及び超音波20分作用菌液3mg接種群において最も軽度で, 超音波各20, 40, 60分作用菌液1mg接種群がこれに次ぐ。

実験 I:

実験Aの成績は, BCG菌液に超音波を20分以上作用させると, 注射局所変化は著しく軽減され, それと同時に免疫効果及び「ツ・ア」も軽度ながら減弱する傾向を示した。それで今度の実験では, 20分以内の超音波作用の影響を見るために, 超音波無作用菌液と超音波10分作用菌液の各々2mg及び0.2mgを前回の実験と同様1群10匹宛の海狸の皮下に接種し, 接種後60日目に10匹の対照動物と共に人型菌H<sub>2</sub>株0.03mgを皮下に接種, 感染後70日目に全動物を解剖して各群の結核病変を比較観察した。第3, 4表及び第2図がその成績である。



は認められない。

以上の実験成績に立脚して考察すると、如上の条件で BCG 菌液に超音波を作用させると、大体作用時間に正比例して菌体が破壊死滅すると考えられる。この点に関し既に渋谷<sup>6)</sup>は、555 KC, 250mA, 2.6KV 牛型菌及び人型菌フランクフルト株に超音波を作用させて溶解実験を試み、1cc 1mg 或いは 1cc 2mg の菌液(生菌)であれば、培地及び培養日数により差異があるが、大体 2~8 時間で完全に破壊されることを顕微鏡検査で確めている。また井上<sup>7)</sup>は 600KC の超音波を、顆結節より製造した類生菌液に作用させ、作用時間 50~80 分で菌様の如何なる物質も認められなくなると報告している。これら先人の業績から見ても余等の実験成績は否定できないであろう。特に余等は直接菌数計算法によつて、既述の条件の超音波は、作用時間 25 分あたりまでは、5 分毎に全菌数の 10~15% が破壊されることを確かめたが、この事実は超音波を BCG に応用する場合特に念頭におかねばならぬと思う。

既に第 1 報の緒言で述べたように、柳沢・大林<sup>8)</sup>、畑<sup>9)</sup>及び山中<sup>8)</sup>等は、10~15 分の短時間の超音波作用は培養上 BCG 菌の発育力に見るべき影響を与えずと結論し、特に畑、山中は培養試験で生菌数は減少しないと結論している。余等の培養試験成績もこれら先人の成績と一致することは事実であるが、鏡検所見及び直接菌数計算の成績から見て、その結論には賛意を表し難いのである。余等の実験成績において、菌数も菌塊数も超音波作用とともにはじめから直線的に破壊減少するにも拘らず、培養試験においてはコロニー数は減少しないばかりでなく、5~10 分作用のものでは却つて多少多くなる傾向が見られるという一見パラドックスの事実は、菌体を破壊する程度の超音波は BCG の発芽力を或程度促進すると考えなければ説明できないであろう。また超音波のこの発芽促進力が実際に破壊される菌数をカバーするために、培養試験のみをもつてすれば、短時間の超音波作用は菌の発育力及び生菌数に見るべき影響を与えないというような結果になるものと考えられる。

BCG 菌液に超音波を作用させると、注射部位の膿瘍潰瘍の発生が著しく軽減されることは事実である。しかしかなりの程度(20分)に超音波を作用させた菌液でも大量接種すれば局所反応は増強する傾向を示し、また短時間作用のものでは(10分)局所反応はさして軽減されない事実から見て、超音波が BCG の膿瘍潰瘍の発生を或程度防止するのは、BCG 菌体に及ぼす超音波の化学作用のためではなくて、菌体及び菌塊を破壊するという意味で、超音波が BCG の集団性に及ぼす物理的影響のためと考えるのが妥当であると思う。

柳沢・大林は BCG 菌塊に直接超音波を 10~15 分作用させて製造した所謂超音波ワクチンの 0.1 及び 1mg

と従来の瑪瑙乳鉢手摺法によるワクチンの同量を海豚において比較し、両者の免疫効果には殆んど差がないと報告している。余等の実験も結果においては氏等の成績と全く一致し、BCG 菌液 0.2mg 及び 2mg を海豚に接種した場合の免疫効果は、超音波を 10 分作用させてもささなくても、殆ど変りがない。しかし乍らこの事実を以て直ちに、短時間の超音波作用は BCG の免疫効果にさしたる影響を与えないと一般的な結論を下すのは甚だ危険である。何となれば、免疫効果を云々する場合、動物個体に対する接種ワクチンの量的関係が常に問題になるからである。すなわち 0.1~2mg を海豚に接種する場合と、現在一般に行われているように 0.02~0.04mg を人体に接種する場合とは自ら別個の問題である。前者は海豚に対しては極めて大量接種であり、後者は人体に対しては少量接種である。従つて前者においては接種量がたとえ半減しても免疫効果はさして影響を受けないであろうが、後者の場合には 2~3 割の増減も免疫効果にかなりの影響を与えるだろうことは想像に難くない。事実、人体接種の場合においては接種量の少ない程陽転率がわるく、0.01mg 接種は 0.02mg 接種に比べて陽転率が極めて悪い事実<sup>9)</sup>、また同じ 0.02mg でも超音波を作用させたものだと陽転率がかなり低下する事実<sup>10)</sup>はこのへんの消息を物語っているものと思う。実際問題として常に厳密に考慮しなければならない事実であろう。

(本研究は著者が旧満洲国厚生研究所在任当時の業績である。昭和 19 年)

#### 文 献

- 1) 松崎・林・加藤・横繩：大阪医学会雑誌，38巻，5号，737頁，昭和14年。
- 2) 辻岡：医学研究，15巻，10号，2255頁，昭和16年。
- 3) 柳沢・大林：第16回連合微生物学会記録，81頁，昭和17年。
- 4) 畑：柳沢・大林の研究発表に対する追加，同上。
- 5) 渋谷：日本医事新報，943号，3591頁，昭和15年。
- 6) 井上：東京医事新誌，3176号，529頁，昭和15年。
- 7) 山中・藤本外4名：大阪高等医学専門学校雑誌，6巻，2号，昭和14年（医学中央雑誌より引用）。
- 8) 北本・白川：日本臨床結核，4巻，8号，522頁，昭和18年。
- 9) 占部：日本医学及健康保険，3325号，13頁，昭和18年。