

マウスによる実験的結核症の免疫実験

第2報 BCG 接種より感染迄の期間と免疫との関係について

慶応義塾大学医学部細菌学教室(主任 牛場大蔵教授)

阿部逸夫

(昭和28年4月8日受付)

[本論文の要旨は昭和27年11月第7回日本細菌学会関東支部総会において報告した]

先にマウスを使用して実験的結核症の免疫実験を行い、BCGがマウスにおいても有効であることを認めたりしたので、今回はBCG接種後種々の期間において感染を行い、その免疫処置の期間と免疫との関係を追求した。

実験材料及び方法

使用マウス：体重15—18gの健康白色マウスを使用し、同時に同一場所から購入したものを全実験を通じて使用した。

使用菌株：BCGは予研から分与され以後教室に保存されているものを使用し、感染菌株は腎結核患者の尿から分離された中野株で、ストレプトマイシン(SMと略)に対して1000γ/ml以上の耐性を有し、分離後約3年間

教室に保存されているものである。

菌浮游液は型の如く瑪瑙の乳鉢を使用して所要の濃度の生理的食塩水浮游液を作った。

実験はマウス全群を6群に分ち、第1—4群はそれぞれ感染前4, 3, 2, 1週にBCG 0.1mg (0.2ml)を静脈内に接種免疫し、第5群は感染直前に同様の免疫処置を行った(以下これらを4週一, 3週一, 2週一, 1週一, 直前群と略す)。これら免疫処置に使用したBCGは生菌単位として1mg中2000万—4000万個を有していたが、感染前1週の前処置に使用したものだけは非常に少なく48万個であつた。

感染は全群すべて同時に行い、中野株 0.1mg(0.2ml)を尾静脈から感染させた。感染菌中野株は1mg中約500万の生菌単位を有していた。

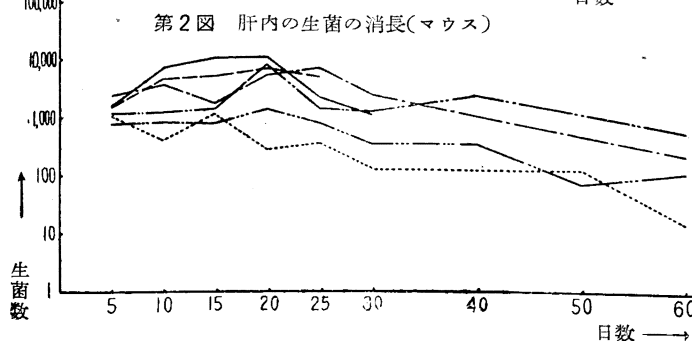
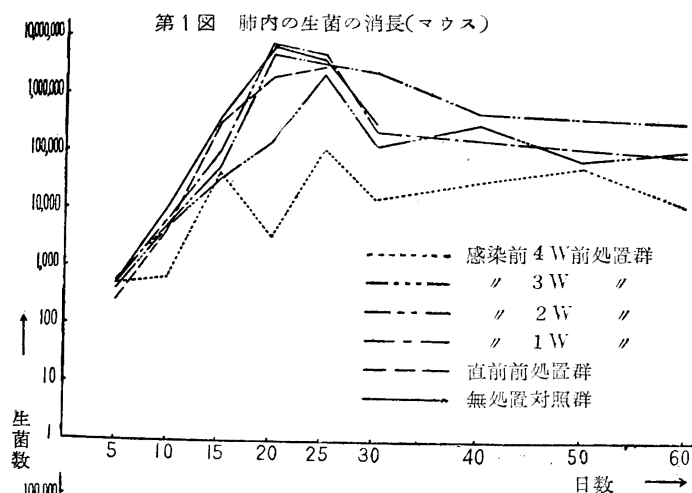
感染直前に全前処置群の各群3匹宛をエーテルで屠殺し、感染時におけるBCGの保菌状態を検査した。

感染後は第1報りと同様の方法で観察した。但し定量培養には100γ/mlのSM加1%KH₂PO₄培地を使用した。

実験成績

1) まず感染時における前処置菌BCGの体内における分布を見ると、直前群では肺・肝・脾共に1mg中1000以上の生菌単位を有し、腎においては約60であつた。1週群では急激に減少しており、肺に数個、肝・脾では30内外、腎には1例に1個認められたのみであつた。感染前2—4週に前処置した群では、3群共に大体同様の保菌状態を示し、肺では1mg中1—20個、肝・脾では50—300、腎では1—5個の菌を認めた。

2) 感染後の体内の菌の消長について見ると、肺では第1図に示すよ



うに、対照では感染後 20 日迄対数的に増加し以後やや減少して、30日屠殺で生残マウスがなくなっている。直前群もほぼ同様であるが、感染後 25 日で最高に達し同時に生残マウスがなくなった。1週、2週両群は共にほぼ同様の傾向を示し、その前半の曲線は対照と大体において一致していた。3週群となるとかなり異なつた経過をとり、増殖の速度が緩やかとなり、最高の頂点もやや低くなつている。4週群ではそれが一層著明となり、菌の増殖が抑えられていることがよくわかる。

次は肝であるが、これは第2図に見られるように、対照では感染後 5日における菌数は肺よりも多いが、その後の増殖は緩慢であつて 10 日ではほぼ頂点に達し、その状態が 20 日迄続いて以後減少している。直前群も対照とほぼ同様と見ることが出来る。1週一、2週群となるに従つて増殖は一層緩慢となり、感染後 20—25 日でやつと対照群の 10 日頃の菌数となり以後漸次減少している。3週一、4週群では増殖阻止が一層著明となり、5 日以後は殆んど増殖せず一路漸減の経過を辿つた。

脾における菌消長は第3図に示すように肝と殆んど一致していた。

腎内の菌消長は第4図に示す通りである。対照について見ると数は非常に少ないが、その経過は肺におけるものとよく似ている。直前群は対照と殆んど一致した曲線を示した。1週一、2週群は両者共その前半の曲線はほぼ一致し、対照群よりも増殖の遅れていることを示して

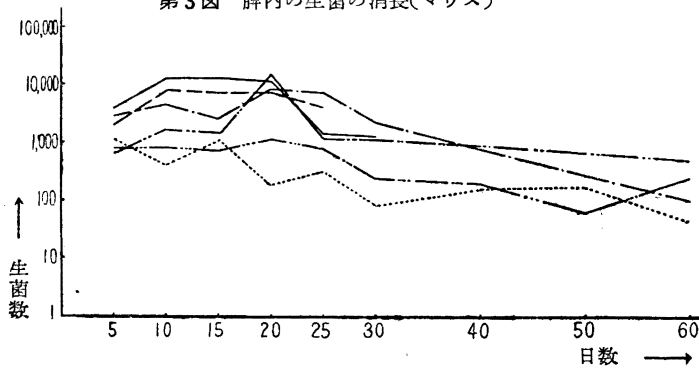
いるが、後半になると両者間に相当な開きが見られた。3週群は感染後 40 日迄漸次減少していつたが、50日以後急激に増加した。4週群も3週群とはほぼ一致した経過を示したが、菌増殖阻止の程度が一層著明であつた。

3) 肺の肉眼的変化は第1表の如くであつて、感染後 10 日迄はいずれの群も未だ著明な変化は認めなかつた。15 日後になると各群共或程度の変化、すなわち暗灰白色の小結節が散在しているのが認められるようになったが、その程度は対照群及び直前群に僅かに高度であつた。20—25日になると対照群及び免疫処置期間が短い群においては、著明な変化が現れ、肺における結節の大きさも大きくなり、その占めている割合も増大した。前処置群の中で3週一、及び4週群では、この時期の肺病変は対照に比して幾らか軽度であつて、特に 20 日後の所見がそうであつた。なおこの他生死観察群・逐次屠殺群共に、特に対照及び免疫処置期間の短い群のものの中に、この時期において多数の死亡マウスを出したが、これらマウスの肺には多くは著明な肉眼的変化が認められた。感染後 40 日以後は対照一、直前一、1週群の3群は殆んど死亡してしまつたので他の3群についてのみの観察であるが、その後の変化は不変乃至やや増悪という程度であつた。

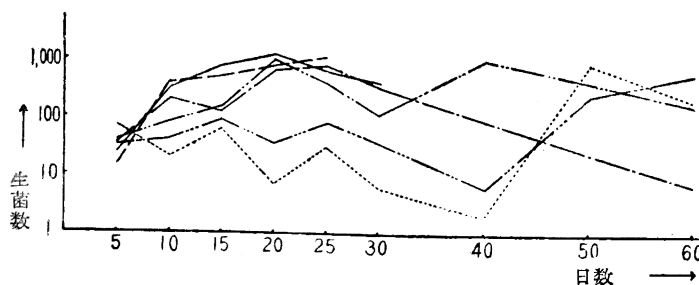
4) 脾の重量は体重との比(脾重量は m g, 体重は g)で示したが、第1表に見られるように、概して感染後 25—30日迄は時日の経過と共に値が大きくなつてはいるが、肺の病変度とは必ずしも一致せず、肺に高度の変化を示すもので却つてこの値が小さかつたり、反対に大した肺病変を認めないもので大きな値を示したものがあつたりした。BCG 前処置群で感染迄の期間が2週以上のものでは、感染後 5日におけるこの比の値が対照より幾らか大きくなつていたが、その後の値に就いては特に目立つた点はなかつた。

5) 各群 10 匹宛の生死を観察した結果は、第5図に示す通りで、対照では 10 匹中全部が感染後 18—21 日で死亡したのに対し、直前群ではそれよりやや死亡日数が遅れており、又 40 日迄生残したものがあつた。然し逐次屠殺群の中には対照の中にも 30 日でお生残していたものがあり、その剖検所見及び定量培養の結果から、なお暫くは生残できる可能性を思ひしめた。それ故生死観察群 10 匹宛に見られたこの両群間の差はないものと見てよいと思われ

第3図 脾内の生菌の消長(マウス)



第4図 腎内の生菌の消長(マウス)



第1表 肺病変度及び脾重量対体重比

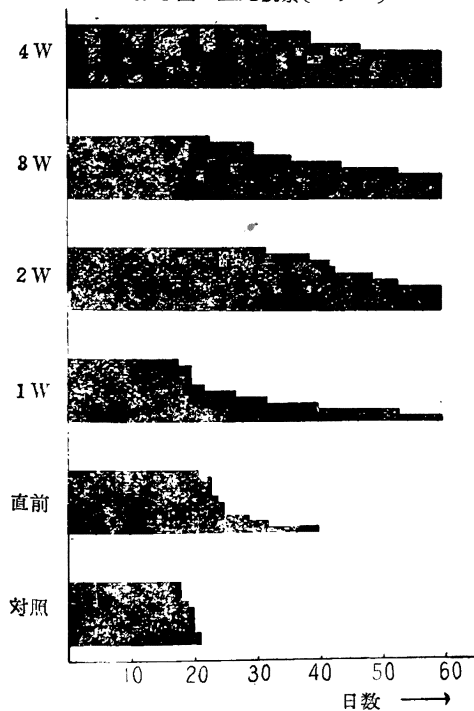
群日	対 照			直 前			1 W			2 W			3 W			4 W		
5	-	±	-	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	±	-	-	-	-
	5.9	4.3	4.8	14.2	3.6	6.4	7.6	5.0	5.6	12.6	15.0	8.5	11.6	10.3	9.6	14.8	14.5	11.5
10	±	-	±	-	±	-	-	±	-	+	±	-	-	±	±	±	±	±
	16.7	18.6	23.2	18.3	23.8	15.8	13.6	18.4	25.0	25.2	31.2	18.2	22.6	19.4	22.2	12.0	24.2	16.0
15	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	15.8	19.7	14.3	19.3	18.2	18.2	22.7	21.6	32.3	18.4	20.5	13.4	19.0	14.1	25.2	29.0	22.3	24.4
20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	25.4	24.0	10.3	29.5	30.2	25.4	22.2	21.5	34.2	31.5	30.0	22.0	17.8	37.0	12.0	9.0	17.3	10.7
25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	14.4	15.0	32.5	30.5	29.5	16.0	22.0	20.7	19.2	26.4	16.0	24.2	14.6	15.5	26.5	23.5	18.4	10.8
30	+	+					+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	26.0	12.5					30.0	17.6	18.0	13.2	11.0	15.5	19.6	15.4	11.8	17.6	25.6	18.0
40										+	+	+	+	+	+	+	+	+
										15.0	10.5	11.0	12.1	9.2	12.0	10.6	11.2	11.9
50													+	+	+	+	+	+
													6.3	14.6	15.0	11.8	10.5	9.6
60							+			+	+	+	+	+	+	+	+	+
							23.6			10.6	10.9	9.2	14.8	8.4	17.1	13.0	8.5	11.6

上段は肺病変度，下段は $\frac{\text{脾重量}(mg)}{\text{体 重}(g)}$: ± 微少結節僅少，+ 結節が肺の 25% 以下を占めるもの，

++ 結節 25-50%，+++ 結節 51-70%，++++ 結節 70% 以上

る。1週群になると一層生残日数の延びるものが現れてきたが、約半数は 20-25 日の間に死亡しており、対照

第5図 生死観察(マウス)



との間に有意の差があるとは認め難い。2週群になると明らかに生残日数が延長しており、30日迄は全部生残していた。3週群は2週群とほぼ同様であつて、60日迄生残したものは両群共に 10 匹中 4 匹であつた。然しこれも逐次屠殺群も含めて考えると、2週群では 30 日前後で死亡したマウスが相当にあつたのに対し、3週群では 30 日以内に死亡したものはなく、その後の死亡マウスも少数であつた。4週群では一層生残日数が延長し、60日観察では 6 匹が生残しており、逐次屠殺群からの死亡マウスも極めて少数であつた。

次にこれら観察群の体重の変動を見ると、一般に死亡例では急激な体重の減少を示した。各群 60 日迄の平均体重の増減を見ると、各群共に 3-4g の減少を示して、各群の間に著明の差は見られなかつたが、観察期間を 30 日に止めると、対照群-3.8g に対し、直前群-3.6g、1週群 -2.8g、2週群・3週群共に -1.0g、4週群 +0.2g となつていて、免疫処置期間の長くなるに従つて体重減少の程度が軽度となつていた。

総括及び考案

以上の実験を総括して見ると、体内の菌の消長、肺における肉眼的変化、生残日数等から見て、免疫処置期間の長くなるに従つて BCG 接種による感染防禦能が増大していることが認められたのであつて、その期間が 1 週以内では殆んど効果がなく、2 週になると体内特に肺内

の菌消長は対照との間に著明の差はないが、生死で見ると明らかな死期の延長が認められた。更に期間が3週となるとすべての点で有効性が認められ、4週では一層著明であつた。4週以上の処置期間についての実験はここでは行ななかつたが、この期間が5週となつていた第1報の成績でも、この実験の4週群に比して特に効果があつたとも思われなから、免疫効果は4週の処置期間でほぼ最大に達すると考えてもよいであろう。

次に感染時におけるBCG保菌状態と免疫との関係を見ると、直前群が最も多くの菌を保有し、1週群にやや少なく、その他の群はほぼ同様の保菌状態を示した。すべて0.1mgを静脈内に接種したのであるが、1週群に少なかつたのは1mg当りの生菌数がこの群のみ著しく少なかつた(他群の約1/100)為であろう。然しこの感染時の保菌状態と免疫との間に直接の関係は認められなかつた。この場合BCGの接種菌量・生菌数と免疫との関係は又別であつて、ここでは触れない。

今度の実験では第1報の時と異なつた菌株を感染菌として使用したが、BCGの効果は第1報の時と全く同様に認められた。今度SM耐性菌を感染菌として選んだのは、感染菌の分離培養にSM加1%KH₂PO₄培地を使用して、前処置菌BCGの混入を避ける為であつた。すなわちBCGをマウスに接種した場合、接種方法等によつて多少の差はあつたが、時日の経過と共に体内の菌は減少していくとはいへ、接種後1カ月以上も体内にBCGを認めることがあつたので、その数は感染菌の数に比して問題にする程のものではないにしろ、感染菌とBCGを区別した方がよいと考えたからである。

マウスにおけるBCGの免疫実験についての考察は、既に第1報で検討したので省略し、免疫処置期間と免疫との関係については、これと同時に付した海狸における重感染実験の報告²⁾に譲ることとし、ここでは第1報及びこの実験から得た結果から、主としてマウスの結核症特にその定量培養による体内の菌消長とその他について総括的に述べて見たい。

マウスの静脈内に結核菌を接種した後の体内における菌の消長については既に小川³⁾の報告があるが、私の所見はこれと少しく異なつた点があつた。この相違は主として使用菌株の毒力の相違から来たものと思われる。

まず肺においては、感染後5日というような初期には肝・脾より菌数が少ないが、以後急激に増加して20—30日で頂点に達し、それから徐々に減少していく。この肺内の菌が最高点に達する頃、死亡するマウスが最も多く、肺の変化も高度で肺は著明に膨大して多数の孤立性乃至融合性の要粒大黃灰白色乾酪様結節と強い充血とが見られた。この点は小川の記載と異なり、小川の場合より早期に且つ非常に旺盛な菌の増殖を認めた。この相違は私の使用した菌の方が毒力が強かつた為と思われるが、患者

から分離してから間もない菌株を使用すれば、殆んどこのような経過をとつたのである。それ故かかる菌株を使用した時は、小川の掲げた濃度よりもつと低い濃度を用いて培養する必要がある。

この肺内での1mg中100万個以上というような高度の増殖をするのは、マウスの結核症における一つの特徴であると考えられる。

肝・脾においては感染後早期においては、肺におけるよりも菌数が多いが、その後の増殖は肺におけるよりも緩やかであり、又早く頂点に達し通常は2週位で頂点に達した。この頂点は肺における程高くなく、その後は漸次減少していつた。この肝と脾とにおける菌の増殖は、全く平行関係にあつて、これは小川も指摘している所である。この場合各群の平均のみならず、個々のマウスについても肝と脾の菌数は大多数非常によく一致し、最も多く違つた時でも2—4倍の差であつた。それ故肝と脾の培養はいずれか一方は省略しても差支えないと考えられる。この場合、肝の方が乳劑とし易いから肝を用いた方が便利であろう。

腎においては絶対数は最も少ないが、増殖形式は肺におけると同様であつて、25—30日で最高に達した。然し増殖率は肺におけるより劣り、絶対数は遙かに及ばなかつた。又第4図に見られる如き免疫群の50日以後の腎内菌平均数の急激の増加は、第1報でも見られた所で、既に第1報で考察した如く菌増殖阻止能力が長期間後に減弱し、その結果の菌増殖が菌絶対数の少ない腎において判然と現れるのではなからうか。又この後期における腎内の菌増殖は特に免疫群においてマウスの個体差が著しく見られた。

臓器の肉眼的変化は既にのべた肺の他には認められなかつた。

脾は一般的にいつて感染後日があつたにつれて増大していき、15—20日で最大となり以後やや縮小していつたが、非感染マウスに見られぬような大きさに達するものは、明らかに感染による脾腫といえようが、個体差も大きく、又脾腫と肺病変は平行せず、病変が重くて死亡するような例では、3週前後でも却つて小さいことがあつた。又BCG接種によつても幾らか増大するのではないかと思われ、第1報及びこの実験の前処置群で感染初期において、対照より却つて脾の大きいものがあつた。

体重は感染後も2週間位は増加し元氣もいいが、死亡の2—3日前から急激に減少し、立毛して元氣がなくなりやがて死亡する。

患者から分離して間もない菌の0.1mgを15g前後のマウスの静脈内に感染させれば、大体上述の如き経過をとつて3—4週で大多数のものが死亡するものである。それ故マウス結核症に及ぼす種々の影響を見る為には、このような菌株を選んで約1カ月の観察をするのが

適当と思われ、それ以上長期に及ぶ観察は個体差等の為にマウスではあまり意味がないと思われる。

結 論

1) マウス結核症に対する BCG の効果は免疫処置期間が長くなるに従つて増大し、期間 4 週のもの最も有効であつた。

2) その有効性の最も敏感に現れるのは、生残日数と肝・脾・腎内の菌消長であり、次いで肺内の菌消長であり、肺の肉眼的変化は余り著明な影響をうけなかつた。

3) マウス結核症に対する種々の影響を見る為には強毒株を用いて (0.1mg 静脈内) 体内菌消長を中心として約 1 カ月の観察が適当と思われる。

(本研究の一部は文部省科学研究費によつた。ここに謝意を表する)

終りに御指導、御校閲を賜つた 恩 師牛場教授に謹謝し、種々御援助を惜しまれなかつた同僚遠藤武、草間久子の両氏に深謝する。

文 献

- 1) 阿部逸夫：結核，28：374—378，昭28.
- 2) 阿部逸夫他：結核，掲載予定
- 3) 小川辰次：結核，25：647，昭25.

関東通信 病院 長	佐々貫之	東大教授	詫摩武人	東京警察 病院 長	塩沢総一
東大助教授	坂本秀夫	東大教授	美甘義夫	順天堂 医大教授	福田保 共
順天堂 医大教授	佐藤 要	東京都 荏原病院 長	長岐佐武郎	東大助教授	江藤秀雄 著
国立東京掖養 所外科医長	宮本 忍	国立東京第一 病院内科医長	小山善之	東大講師	村上元孝

新刊 新 しい 治 療 第 3 集

A5判 540頁
定価 680円

本書内容

- | | |
|-----------------------------------|-------------------------|
| 第1章 (佐々) アイロタイシンの臨床的応用 | 第11章 (坂本) 細菌性発熱物質と臨床的応用 |
| 第2章 (美甘) 血漿療法 | 第12章 (坂本) 脳下垂体埋没療法について |
| 第3章 (美甘) ビタミンの進歩と臨床応用 | 第13章 (長岐) 細菌性赤痢の最新治療 |
| 第4章 (美甘) ストレプトキナーゼ，
ストレプトドルナーゼ | 第14章 (長岐) アメーバ赤痢の化学療法 |
| 第5章 (甘美) アセチルコリン | 第15章 (宮本) 肺切除術の適応と手技 |
| 第6章 (福田) 輸血 | 第16章 (塩沢) ネフローゼの治療 |
| 第7章 (佐藤) ルチン療法 | 第17章 (塩沢) 狭心症の新治療 |
| 第8章 (村上) 強心剤と利尿剤 | 第18章 (村上) 心筋梗塞の治療 |
| 第9章 (坂本) 頭痛の新しい知説と治療法 | 第19章 (小山) 悪性腫瘍の化学療法 |
| 第10章 (詫摩) ACTH と Cortisone 療法 | 第20章 (坂本) カリウム欠乏症とその治療 |
| | 第21章 (江藤) 電子顕微鏡 |

佐々貫之 詫摩武人 塩沢総一 坂本秀夫 共著

改訂第3版 新 しい 治 療 第 1 集

A5判350頁
定価450円 実費

佐々貫之 詫摩武人 塩沢総一 坂本秀夫 美甘義夫
長岐佐武郎 島本多喜雄 中尾喜久 佐々学 共著

増補第2版 新 しい 治 療 第 2 集

A5判450頁
定価550円 実費

東京都中央区(京橋局区内)銀座西7の1

発行所 株式会社 東西医学社 電話 銀座 (57) 2126 ~ 2129 番
振替口座 東京 2818番