

ハムスター (*Cricetus auratus*) に対する BCG 並びに人型結核菌接種に就いて

国立予防衛生研究所結核部 (部長 柳沢 謙)

室 橋 豊 穂・関 又 蔵・吉田 幸之助

(昭和 29 年 2 月 16 日受付)

1 緒 言

BCG の大量をハムスター (*Golden Hamster*) に接種して、その一部のものに進行性結核症を来すのを見たという P. Hauduroy 等^{1)~3)} の報告は、「BCG を以て実験動物に進行性結核症を来さしめた最初の実験」として、BCG の Virulence という面からも、BCG に対する感受性動物の存在という面からも、一つの興味ある問題を投げかけた。わが国においても早速その追試実験が行われ、文部省科学研究費結核研究班々会議に、岡⁴⁾、大林⁵⁾、今村・河盛⁶⁾ 及び柳沢・室橋⁷⁾ によつてそれぞれ独立に実験成績が報告されたが、いずれも Hauduroy 等の報告をその儘では肯定しえないことが結論された。以下われわれの行つた実験成績を総括しようと思う。

2 実験方法

実験 I : ハムスター 5 疋の皮下に BCG 浮游液 10 mg/0.5 cc 宛を、5 疋の睾丸内に 5 mg/0.1 cc 宛を接種し、体重の増減、ツ反応を検し、6 週目に 2 疋宛、12 週目に残りの凡てを屠殺剖検し、肉眼的所見、臓器内の菌数 (定量培養) 及び組織学的所見について検討した。

実験 II : ハムスター 10 疋の皮下に BCG 浮游液 10 mg/0.5 cc 宛、5 疋の皮下に 30 mg/0.5 cc 宛を接種し、26 週 (約 6 カ月) 後剖検、実験 I と同様の検索を行つた。なお実験途中 (12 週) にて 10 mg 接種群、及び 30 mg 接種群中 2 疋宛を剖検して、その成績を参考にした。

実験 III : ハムスター 10 疋に人型結核菌 $H_{37}Rv$ 0.1 mg を皮下接種し、17 週間観察後半数を剖検、前 2 実験と同様の検索を行つた。観察は残る半数につき 26 週後に行う予定であつたが、途中斃死のため追求しえなかつた。

実験 IV : 実験 I において睾丸接種ハムスターから分離された BCG を、Sauton—馬鈴薯に培養し、Sauton 培地に継代 1 代目の菌膜を用いて 30 mg/cc の菌液を作り、10 疋の天竺鼠の皮下或いは筋肉内にそれぞれ 30 mg/cc 宛接種した。接種生菌数は 51×10^8 である。接種後 12 週目に全動物を屠殺剖検し、結核性病変の有無を検した。

3 実験成績

実験 I : 実験開始時体重は 90~110g で、6 週目にはいずれの動物も 15~20 g の体重減少を見た。12

週目に剖検した群では体重減少は少々恢復し、減少 2 疋、不変 2 疋、10g 増加 1 疋であつた。ツ反応には 10 倍及び 100 倍稀釈 O-T を用いて皮内反応を行つたが、いずれに対しても全く反応を示さなかつた。

剖検時接種局所に膿瘍のあつたものは、6 週剖検群 4 疋中 2 疋、12 週剖検群 5 疋中 4 疋であるが、淋巴腺及び臓器の肉眼的所見からは、結核症を疑わしめるところはなく、脾重も 0.1~0.2 g で通常であつた。臓器中の菌は Table 1 に示す如くで、肉眼的に結核結節を全く認めないに拘らず相当多数の菌が生存していることを示している。組織学的所見については後述する。

実験 II : 10 mg 接種、30 mg 接種の両群の内、26 週 (約 6 カ月) 目に体重の増加を見たものはそれぞれ 2 疋及び 1 疋にすぎない。10 倍稀釈 O-T によるツ反応は常に陰性である。剖検所見では、30 mg 接種群中 3 疋の後腹膜淋巴腺が半米粒大に腫脹していた以外は、臓器に結節を肉眼的に認めることはできなかつた。Table 2 には 30 mg 接種群の剖検所見を掲げた。

臓器の定量培養成績は Table 1 の如くで、いずれの群でも脾から集落発生を認めえた程度であり、実験 I の成績に比すれば、培養によつて証明された菌数は著しく減少している。

実験 III : Sauton 馬鈴薯 10 日培養の $H_{37}Rv$ 0.1 mg/0.5 cc を皮下に接種し、17 週目に剖検した。肉眼的所見は Table 2 に示す如くである。観察は実験 II と同様 26 週目迄行う予定であつたが、途中斃死したものは夏季高温のため腐敗し、検索不可能であつた。Table 2 から明らかなように、実験 I、II の場合と相違して、肉眼的にはつきりした結節を臓器に多数認めることができ、臓器内にも明らかに多数の生菌が証明された。

実験 IV : Hamster 睾丸通過 (1 代) 株を 30 mg/cc 宛皮下或いは筋肉内に接種された 10 疋の天竺鼠は、6 週後 100 倍稀釈 O-T に対し 15 mm 以上の硬結を以つて反応した。

剖検所見では、後腹膜或いは門脉淋巴腺に米粒大腫脹を認めたもの 3 疋、肺に結節 1 コを認めたもの 1 疋にすぎず、他はいずれも結核性病変を全く示さなかつた。

組織学的所見 (実験 I—III の総括)

BCG を接種した場合の臓器の病変はいずれも顕微鏡的の大きさのもので、直径 300 μ を超えず、その数は接

Table 1 Quantitative Culture of 10 mg of Organs

Experiment	Hamster No	Inoculum (mg)	Time after inject.	Inoculation	Number of Colonies				
					Lung	Liver	Spleen	Kidney	Testis
I (BCG)	6	5	6 weeks	test.**	0	6	∞		∞
	7*	5	"	"	0	1	8		0
	2	10	"	S-C***	20	8	∞		
	5	10	"	"	1	2	∞		
	8	5	12 "	test.	0	45	∞		∞
	10	5	"	"	154	∞	∞		∞
	1	10	"	S-C	0	4	∞		
	3	10	"	"	0				
II (BCG)	12	10	26 "	S-C	0	0	5	0	
	13	10	"	"	0	0	12	0	
	15	10	"	"	0	0	5	0	
	21	30	"	"	1	2	137	0	
	22	30	"	"	0	0	13	0	
	23	30	"	"	0	0	30	0	
III (H ₃₇ Rv)	26	0.1	17 "	S-C	∞	∞	∞	23	
	27	"	"	"	∞	125	∞	0	
	28	"	"	"	128	82	200	0	
	29	"	"	"	157	72	147	0	
	30	"	"	"	∞	∞	∞	10	
	31	"	22 "	"	∞	∞	∞	2	

Notes: * failed to inject into testis perfectly

** Intra-testicular injection

*** Subcutaneous injection

Table 2 Autopsy findings in the groups of subcutaneous injection

Experiment	Hamster No	Inoculum (mg)	Time after inject	Local site	Lymph-nodes*			Viscera**		
					knee fold	ing. Ret. per.	port.	Lung	Liver	Spleen (weight)
II (BCG)	21	30	26week	—		+	+			(.3)
	22	"	"	—		+	+			(.6)
	23	"	"	—		+				(.3)
III (H ₃₇ Rv)	26	0.1	17 "	*** I	+	+	++	++	+++	(.2)
	27	"	"	I	+	+	+	+++	++	(.2)
	28	"	"	I	+	+		+	+	(.2)
	29	"	"	I	+	+	+		+	(.2)
	30	"	"	I	++	++	+++		++	(.2)
	31	"	22 "	I	+	+	+	++	++	(.4)

Notes: * Enlargement of lymph-nodes

+ Rice-grain size

++ soy-bean size

+++ Pea size

** Grade of tubercle formation in viscera

+ Tubercles found with difficulty

++ Tubercles easily found but about 10

+++ Considerably numerous tubercle

*** Induration

種後の時の経過とともに少なくなる傾向がある。脾・肝・肺の順に結節の数は多く、腎には認められなかった。

すなわち BCG による結核結節は臓器によりその性状が少々異なるが、凡て類上皮細胞のみからなり、周囲との境界は極めて明瞭である。殊に肝臓では、周囲組織との間に淋巴球、プラスマ細胞の集簇が存在する場合もある。26週目(約6ヵ月後)に剖検した群では、病巣が1~2コの巨細胞のみからなる極めて小さなものとして認められるものもあつた。

BCG 接種後の各時期における以上の所見は、発育の極めて遅い結核性肉芽腫、或いは消失しつつあるそれと考えることができる。抗酸性菌は、脾ではしばしば、肝では稀に認められた。

H₃₇-Rv 0.1 mgを皮下感染して17週目(約4ヵ月後)に剖検した所見では、各臓器共病巣の数は BCG 接種の場合のいずれの時期のもの、又いずれの接種量のものよりも明らかに多く、殊に肺に著しかつた。脾及び肺では、結核結節が互に融合して、肉眼でも容易に認めうる大きさの病巣となつているものもあつた。

個々の結節に就いて BCG 接種の場合と比較すると、結節の大きさが概して大きいこと、類上皮細胞相互の境界が比較的明瞭なものがあること、周囲の浸潤細胞に多形核白血球が多いことなどを除けば、著しい差はなく、やはり病巣の拡り方の遅い病変と考えられる組織像である。抗酸菌は極めて多数に証明されるが、

脾の大病巣でも、中心壊死の傾向は少なかった。なお H_{37} -Rv 接種群では、17週以後凡て途中斃死したために、それ以後の時期の検索が不可能であつた。

4 総 括 考 按

結核菌を用いる動物実験には、天竺鼠やマウスなどに較べて、ハムスターは従来余り用いられていない。しかも同じくハムスターと呼ばれる中に異なる種類のものもあることも余り知られておらず、しばしば混合され勝ちなので、その区別についてまず Dennis の記載¹⁴⁾を転用する。

属 : <i>Cricetus</i>		
亜 属 : <i>Cricetus</i>	<i>Mesocricetus</i>	<i>Cricetulus</i>
種 : <i>C. Cricetus</i>	<i>C. Auratus</i>	<i>C. Griseus</i>
	(<i>C. Vulgaris</i> <i>C. Frumentarius</i>)	
俗 名 : European Hamster	Syrian Hamster	Chinese Hamster
又は	又は	又は
Blackbellied H.	Golden H.	Striped H.
毛 色 : 背 : 黄褐色	背 : 赤褐色	主として灰色
腹 : 褐黑色	腹 : 淡灰色	
成獣の大 小	大 小	甚だ小
長さ : 最大 130 cm	約 13 cm, 約 110g	約 7cm, 約 30g
実験用途 : Leishmaniasis	Leishmaniasis	Leishmaniasis
(Mayer 1926)	(Adler, 1931)	(Smyly & Young 1924)
Influenza	結核(Balfour-Jones, 1937)	結核(Korns & Lu 1927)
(Taylor & Dreguss 1940)	脳炎ウイルス(Lennette, 1941)	Influenza (Yen, 1940)

われわれの用いたのは Golden Hamster で、その結核菌に対する感受性に就いては既に Balfour-Jones⁸⁾を始め Griffith & Pagel⁹⁾, Griffith¹⁰⁾, Coper & Cohn¹¹⁾, Steenken & Wagley¹²⁾, Glover¹³⁾, Dennis 等¹⁴⁾などによつて種々の面から詳細な検討が加えられ、人型・牛型・鼠型 (Vole) 及び鳥型のいずれによつても進行性結核病変を来すこと (Griffith), 天竺鼠と異り感染後ツベルクリン反応は陽性に現われないこと (Steenken 等), 或いは又結核菌を多数含むに拘らず、これに対する細胞の反応が甚だ軽く、殆んど健康の場合に近い状態を示すこと (Dennis 等) などの諸点が特徴として挙げられている。われわれもまた H_{37} Rv 0.1 mg 皮下接種によつてこの特徴をそのまま認めることができた。

BCG を接種して外に思つた点は、5~30 mg 接種後、剖検時淋巴腺腫脹や臓器に肉眼的に結核性病変を全く認め得ないに拘らず、組織学的には極めて多数の結節を認め、且つ培養により極めて多くの菌を証明しえたことである。通常天竺鼠の場合には、この程度の接種量を

以つてしては、2週以後臓器培養によつて証明しうる菌が著しく減少し、6週以後は稀にしか認めえない (淋巴腺は別として) という事実に比すれば之は甚しく異なる所見である。実験 I, II を通じて、BCG 接種後長期 (約 6 カ月) を経た場合には、それ以前の時期に比してかなり菌の減少が認められはするが、天竺鼠に比すれば減少傾向は極めて緩徐であり、これが恰かも BCG が有毒結核菌と同様に振舞うかの如き観を呈するのであろう。他方結核結節の面から見れば、顕微鏡的な結節形成は多数にあつても中心壊死の傾向はなく、有毒菌の場合よりも

明らかに病変は軽微である。Hauduroy 等のいわゆる進行性結核病変が如何なる所見に基いて断定されたかは彼等の実験の詳細を知りえないために明らかではないが、われわれの実験成績、並びに Hauduroy 等のそれと匹敵しうる大量 (260mg) の BCG を接種した今村・河盛⁶⁾の成績に徴しても、肉眼的に認める結節は生ぜず、淋巴腺の腫脹も殆んどなく、組織学的検索及び臓器の培養によつて多数の菌と結節とを証明しえたにすぎない。もし Hauduroy 等が進行

性病変としての大きな結節若くは乾酪化を認めたとすれば、それは BCG に基くものではないと思うのである。実験 III にも述べたように、有毒結核菌 H_{37} Rv 0.1 mg を皮下接種した場合に、BCG の $1/100 \sim 1/300$ 量であつたに拘らず、菌の体内における増殖は著しく、斃死する迄その状態を保持し、肉眼的にも認めるような大きさの結節を極めて多数に生じ、しかもその内には時に中心壊死を認めるものさえあつたことは、明らかに BCG 接種の場合と異なる所見である。Hauduroy 等は 200 mg 以上の BCG 接種を行つて、その内何正かに進行性病変を惹起したというが、接種された BCG の絶対量の多いことから考えても、もし本質的に Virulent であるとすれば更に多くの動物にも相当強い病変を来してよい筈であり、彼等の得た不均等な罹患状態からするならば、それは BCG 自体の Virulence によるとは考え難く、寧ろ実験途上における有毒菌混入か或いはそれに類する感染の可能性というような条件を一応考慮に入れずには説明し難いと思う。更に又附け加えるならば、体重 100g 内

外の小動物腹腔内に 200 mg 以上の菌を接種した場合に、その菌の絶対数に基く淋巴流の閉塞や、或いは又腹腔内に起るであろう多量の異物としての機械作用による影響も、不慮の死を齎しうることを考慮せねばならぬと思う。

勿論 BCG は甚だ弱いながら Virulence を保持しているものであり、M. Lurie¹⁵⁾ の実験からも明らかなように、天竺鼠の静脈内に接種してその消長を追求すると、一定期間弱い乍ら或程度の分裂増殖を営むことが知られる。然しこの分裂増殖は勿論制約された甚だ弱いものにすぎず、間もなく体内に生ずる免疫力の発現によつて急速に停止せしめられ、次で菌の急速な消滅排泄となつて終るのである。天竺鼠におけるこの経過から考えると、ハムスターに見られた BCG の消長の特異性は、この動物の体細胞の反応の特異性を示すように思う。組織学的に細胞反応の弱さによつて示されているように、細胞が菌に対して極めて弱く且つ緩徐にしか作用しえず、その作用の下に、接種された菌の Virulence の程度に従つて、漸次消滅されるものと、消滅されずに動物が斃死する増殖を続けるものとの別が存すると考えられ、BCG は前者に、H₃₇Rv は後者に属すると考えうと思う。和田¹⁶⁾がハムスターの脳内接種によつて BCG や種種の結核菌の Virulence を比較検討した成績からも、長期に亘つて臓器内に多数の菌を証明しうるに拘らず、BCG 接種の場合には接種後数時間を除き臨床症状を全く認めえず、有毒菌接種の場合とは明らかに異なることが報告されているが、少なくとも Virulence という面からは、BCG はハムスターに対して進行性病変を起さしめる程の強さを持つとは到底考えることができない。

ハムスターにおけるこのような状態を、結核菌に対して抵抗性が強いためであろうと説明する向もあるが、細胞反応の上に見られる状態からすれば、抵抗性が強いということではなくて、感受性が著しく鈍いことによるものの如き印象を受ける。すなわち授与された菌に対する免疫体産生能が、天竺鼠などとは異つて甚だ弱く且つ緩徐であるために、BCG の如き弱い Virulence のものでさえも一定期間体内に生存、増殖を続けることができ、それがやがて生ずる弱い免疫によつて、漸次消滅されてゆくというのがその経過であると考えられる。勿論 BCG 始め他の結核菌に対するハムスターの感受性に就いては、更に接種量を変え、接種経路を変えて、体内における菌の消長と細胞反応との両面から検討を加えなくてはならないが、その場合、時間的経過に伴う動的な分析が詳細に行われなければならないであろう。

5 結 論

Golden Hamster (*Cricetus auratus*) に BCG (5~30 mg) 或いは人型結核菌 H₃₇Rv 0.1mg を接種し、剖検所見、組織学的所見及び臓器内菌数の消長を比較観察した。

BCG 群では、6, 12 或いは 26 週後剖検のいずれの時期にも肉眼的に結核結節を認めなかつたが、臓器の定量培養により多数の菌を証明しえた。但し 26 週における菌数はそれ以前の時期に比して明らかに減少していた。これに対して H₃₇Rv 群では、肉眼的に極めて多くの結核結節を認め、臓器内菌数も甚だ多く、組織学的にも BCG 接種群のいずれよりも著しい結節形成を示した。

以上の所見並びにツ反反応が終始陰性であつたことから、BCG や結核菌に対する Golden Hamster の反応は天竺鼠と異つて著しく鈍感であるといふと思う。BCG の体内からの消失が天竺鼠の場合と異り極めて緩徐であることは、恐らくは菌に対する免疫体産生能が低く BCG の如き Virulence の弱いものに対してさえ一定期間その増殖を阻止しえないためと考えられる。そして H₃₇Rv による病変及び体内におけるその増殖の程度と対比すれば、BCG が Golden Hamster に対して Virulent であるとはいへない。又 Golden Hamster 通過株は、天竺鼠に対して少しも Virulence の上昇を示さなかつた。

拙筆に臨み、御校閲を戴いた柳沢部長、組織学的検索を担当下さつた病理部江頭部長に謝意を表す。

本研究は文部省科学研究費の援助によつてなされたもので総合研究結核研究班々会議に報告された。今村班長に深甚なる謝意を表す。

文 献

- 1) P. Hauduroy, Rosset, W.: C. r. des Seances de l'Acad. Sc. T. 232, 445, 1951.
- 2) P. Hauduroy, Rosset, W.: La presse Med. 59, 121, 1951.
- 3) Nicod, J.L., Hauduroy, P., Rosset, W.: ibid 59, 605, 1951.
- 4) 岡捨己: 文部省結核研究班報告 XI, 1951; VI, 1952.
- 5) 大林容二: 同 VI, 1952.
- 6) 今村荒男・河盛勇造: 同 III, 1953.
- 7) 柳沢謙・室橋豊穂: 同 XI, 1951; II, 1952.
- 8) Balfour-Jones S.E.B.: J. Path. & Bact. 45, 739, 1937.
- 9) Griffith, A.S. & W. Pagel: J. Hyg. 39, 154, 1939.
- 10) Griffith, A.S.: ibid 41, 260, 1941.
- 11) Corper, H.J. & M.L. Cohn: Am. J. Clin. Path. 14, 571, 1944.
- 12) Steenkens, W. Jr. & P. Wagley: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 60, 255, 1945.
- 13) Glover, R.E.: J. Path. & Bact. 58, 107, 1946.
- 14) Dennis, E. W., F. C. Goble, D. A. Berberian & E. J. Frelsh: Annales of New York Acad. Science, 52, 646, 1949.
- 15) M.B. Lurie: Journ. Exp. Med. 60, 163, 1934.
- 16) 和田明二: 日本細菌学雑誌, 8, 225, 1953.