

BCG 及び Vole Bacillus 接種動物に対し Cortisone の及ぼす影響

名古屋大学医学部予防医学教室

岡田 博・不破 博徳・加藤 孝之

(受付 昭和 29 年 11 月 13 日)

(本論文の要旨は昭和 29 年 4 月, 日本結核病学会第 29 回総会において発表した。)

1 緒 論

人の結核症と Cortisone との関係については Wallner 等¹⁾, Kleinschmidt 等²⁾, Dorner 等³⁾, その他多くの人々⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾により報告され, なかんづく米国の Trudeau Society⁸⁾ はすでに発表されたこれ等の報告を検討して, 活動性ならびに非活動性結核症の者に Cortisone を使用することにより, その病勢は増悪する場合が多いことを認めて警告を発している。しかしながら, 動物の実験的結核症にあつては, 人の場合と異なり, 使用動物の種類, 菌感染の方法, 及び Cortisone 使用方法, 特にその使用量, 使用期間等の複雑な条件に左右されるためか, 未だ一定した成績は得られていない。

Karlson 等⁹⁾, Le Maister 等¹⁰⁾¹¹⁾, Michael 等¹²⁾, Spain 等¹³⁾, Lurie 等¹⁴⁾, Solotorovsky 等¹⁵⁾の人達は Cortisone 使用により, 動物の実験的結核症においても, その増悪する場合が多いと報じている。この増悪の機転については正確なことはなお不明であるが, Spain 等¹⁶⁾, Howes 等¹⁷⁾は Cortisone による肉芽組織生成の障碍が第一の主要な原因であろうと言つており, その他喰細胞の活動力の変化, 淋巴球の減少等による生体の防衛力ならびに免疫力の低下等による影響も関与していると考えられている。なお BCG 接種と Cortisone 投与との関係についてみるに, BCG を接種された人に対する影響については未だ報告を見ないので, 如何なる影響を与えるか不明であるが, BCG 接種動物に対し Cortisone の与える影響については, Harris 等¹⁸⁾はツ・アレルギーの著明な減弱を報告し, 又, Birkhang¹⁹⁾はツ・アレルギーの減弱, 血液像の変化, 各所リンパ腺肥大の抑制等を報告している。

しかしながら, BCG 接種の結核予防において占める意義の重大性より思考して, BCG 接種と Cortisone 投与との関係については充分なる解明の行われることが必要であり, 従つてわれわれはかかる観点より BCG 接種動物に対し Cortisone 投与の与える影響について, なるべく多くの観察事項により, さらに一層の究明を加えるとともに, 又 Wells により発見せられ且つ Wells²⁰⁾, 室橋²¹⁾等の報告する如く, BCG に代り得るものとして注目せられている Vole Bacillus を接種した動物に対して

Cortisone の影響をも見るべく次の如き実験を行つた。

2 実験方法

(1) 供試動物: 体重 350 g 前後の Römer 反応陰性の健康雌性モルモット 28 匹を次の如き諸群に分けて使用した。(i) H₃₇RV 接種群 8 匹, (ii) BCG 接種群 8 匹, (iii) Vole Bacillus 接種群 8 匹, (iv) 菌非接種群 4 匹, (i) (ii) (iii) の三群を更にそれぞれ a) Cortisone 非使用群 2 匹, b) Cortisone 25 mg 使用群 3 匹, c) Cortisone 50 mg 使用群 3 匹に分け, (iv) の菌非接種群は Cortisone 25 mg 使用群と Cortisone 50 mg 使用群とに分けた。

(2) 菌接種: Sauton 培地 2 週間培養の H₃₇RV 0.01mg を 0.1ml の生理的食塩水とともにモルモットの腹壁皮下に接種した。なお BCG は Sauton 培地に 12 日間培養のものを, 又 Vole Bacillus は Sauton 培地に 4 週間培養のものをそれぞれ 0.1 mg/0.1 ml モルモットの腹壁皮下に接種した。

(3) Cortisone 使用: 菌接種 1 週後より 1 回量 2.5 mg の Cortisone acetate Merk を 25 日間にわたり, 全量が 25 mg 及び 50 mg になるようにそれぞれ 10 回及び 20 回モルモットの大腿部筋肉内に注射した。

(4) 観察事項:

(i) 体重測定ならびに全身状態の観察: 実験前より実験中を通じ毎週 1 回全動物の体重を測定し, 又毎日全動物の一般状態を観察した。

(ii) ツベルクリン反応: 全実験動物に対し, 実験開始 1 週間前と菌接種 4 週後に旧ツ 10 倍稀釈液 0.1 ml を腹壁皮下に注射し, 48 時間後に硬結長短径を測定した。

(iii) 剖検: Cortisone 最終注射より 1 週後(菌接種 5 週後)に全動物を屠殺剖検し, 肺・肝・脾・腎・腹腔リンパ腺の肉眼的変化を観察し, 又脾の重量を計測した。

(iv) 病理組織学的検索: 肺・肝・脾・腎の各一部を 10% Formalin で固定した後 Paraffin 切片となし, Haematoxylin-Eosin 染色及び Van-Gieson 氏染色標本を作成した。なお一臓器から一標本のみ作成したが, 切断面が可及的最大面積を有するように留意して観察範圍をなるべく広くするように努め, 又, 観察に当つては病巣形成・乾酪化・線維化・非特異性変化の 4 項目にわた

つてその有無・強度により -, ±, +, ++, 卍 に分けた。

(v) 臓器結核菌定量培養: 肺・肝・脾・腎よりその一部をとり、滅菌海砂を混じてよく磨砕し、1% 滅菌苛性ソーダ液を以つて 10 倍に稀釈し、その 0.1 ml を小川氏 1% 磷酸カリ培地に注入し 37°C, 6 週間以上培養し、各臓器 10 mg よりの菌集落発生数を計算した。

(vi) 血清蛋白分層変動の測定: 全動物の実験前後における血清蛋白分層値の変動を Tiselius の電気泳動装置(日立製 HT-B 型)を用い、電気泳動研究会の規定²²⁾に基いて測定した。泳動条件は PH 7.8, イオン強度 0.1 の磷酸緩衝液を使用し、100 Volt, 10 mA, 50 分間で実施し、各分層値の測定は下降脚像で重量法によつた。

3 実験成績

(1) 体重変動: 第 1 表に示す如く実験動物のすべてに体重の増加が見られ、菌株の差異及び Cortisone の使用量による顕著な差は見られなかつた。菌接種後 4 週間は一ように増加を示しているが、各群共 5 週目に入ると増加の停止或いは減少が見られた。

第 1 表 体重変動測定成績 (g)

	Corti- sone	実験前	菌接種					増加
			I W	II W	III W	IV W	V W	
BCG 群	非使用群	350	375	345	390	415	415	+65
	25mg 群	355	375	380	395	420	430	+75
	50mg 群	385	415	410	430	445	415	+30
Vole B 群	非使用群	335	320	315	345	380	385	+50
	25mg 群	375	385	395	415	455	475	+100
	50mg 群	370	370	365	405	440	450	+80
H ₃₇ RV 群	非使用群	415	435	470	480	500	475	+60
	25mg 群	385	400	440	455	480	480	+95
	50mg 群	425	440	440	465	490	490	+65
菌種非群接	25mg 群	345	365	385	400	430	440	+95
	50mg 群	335	380	410	420	430	440	+105

↑ Cortisone 使用開始……………Cortisone 中止

第 2 表 ツベルクリン反応検査成績

	Cortisone	動物数	硬結長短径		中心部壊死
			平均 (mm)		
BCG 群	非使用群	2	13.8	0	
	25mg 群	3	9.6	0	
	50mg 群	3	12.2	2	
Vole B. 群	非使用群	2	14.0	0	
	25mg 群	3	9.5	0	
	50mg 群	3	12.0	0	
H ₃₇ RV 群	非使用群	2	16.3	2	
	25mg 群	3	12.5	1	
	50mg 群	3	14.0	1	

(2) ツベルクリン反応: 第 2 表に示す如く BCG 群, Vole Bacillus 群, H₃₇RV 群, とともに Cortisone 使用により反応が減弱した。特に H₃₇RV 群では Cortisone 非使用群が反応強度ですべての中心部に壊死部を見たが Cortisone 使用群ではその強度が弱く、中心部に壊死部を認めたものは 1/3 であつた。

第 3 表 BCG 接種群病理組織学的所見

動物番号	病巣形成	乾酪化	線維化	非特異性変化	
コ非使用群	10	肺 + 肝 +	- - -	- - -	気管支周囲リンパ浸潤 洞カタル
	14	肺 + 肝 -	- + -	- - -	洞カタル
コ使用群	1	肺 - 肝 -	- - -	- - -	気管支周囲リンパ浸潤 洞カタル
	2	肺 + 肝 +	- - -	- - -	気管支周囲リンパ浸潤 洞カタル
	4	肺 - 肝 +	- - -	- - -	気管支周囲リンパ浸潤 洞カタル
		5	肺 - 肝 -	- - -	- - -
コ使用群	8	肺 + 肝 -	- - -	- - -	肺炎 洞カタル
	9	肺 - 肝 -	- - -	- - -	肺炎 出血 鬱血

第 4 表 Vole Bacillus 接種群病理組織学的所見

動物番号	病巣形成	乾酪化	線維化	非特異性変化	
コ非使用群	12	肺 + 肝 -	- - -	- - -	洞カタル+
	13	肺 + 肝 +	- - -	- - -	洞カタル+
コ 25mg 使用群	16	肺 - 肝 -	- - -	- - -	-
	19	肺 - 肝 -	- - -	- - -	-
コ 50mg 使用群	11	肺 - 肝 -	- - -	- - -	-
	22	肺 - 肝 -	- - -	- - -	-

(3) 解剖学的所見: BCG 群ならびに Vole Bacillus 群では肉眼的に肺・肝・脾・腎に結核性病変は見られず、腹腔(腸間膜)リンパ腺の腫脹のみを見たが、Cortisone 使用による影響は著明でなかつた。H₃₇RV 群では肺・肝・脾に結核性病変を見、脾の重量も BCG 群、Vole Bacillus 群に比し大であり、リンパ腺は腸間膜のみならず肺門部リンパ腺にも著明な腫脹を見たが、

Cortisone 使用による影響は明らかでなかつた。

(4) 病理組織学的所見: 第3表~第5表の如く、BCG 群、Vole Bacillus 群はいずれも H₃₇RV 群に比して病変が軽微で、なお且つ Cortisone 使用群の方がよ

第5表 H₃₇RV 接種群病理組織学的所見

		動物番号	病巣形成	乾酪化	線維化	非特異性変化
コ1非使用群	34	肺	-	-	-	出血
		肝	+	+	+	-
	40	肺	+	-	-	-
		肝	++	+	-	-
コ25mg使用群	36	肺	-	-	-	肺炎
		肝	++	-	-	-
	38	肺	-	-	-	肺炎
		肝	++	-	-	粟粒大細胞浸潤集
コ50mg使用群	31	肺	-	+	±	気管支肺炎
		肝	++	+	+	-
	33	肺	+	+	-	粟粒大細胞浸潤集
		肝	+++	++	+	-

第6表 臓器結核菌定量培養成績

H₃₇RV 接種群

動物番号	Cortisone 非使用群		Cortisone 25mg 使用群		Cortisone 50mg 使用群		
	34	40	36	38	31	33	35
肺	-	-	+	-	+	+++	+
肝	++	+	++	+++	+++	+++	+++
脾	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
腎	-	+	-	-	-	-	-

BCG 接種群

動物番号	Cortisone 非使用群		Cortisone 25mg 使用群		Cortisone 50mg 使用群		
	10	14	1	2	4	8	9
肺	-	-	-	-	-	-	-
肝	+	-	-	-	-	-	-
脾	+	+	+	++	+	++	++
腎	-	-	-	-	-	-	-

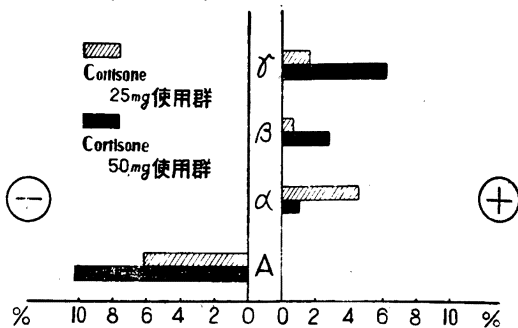
Vole Bacillus 接種群

動物番号	Cortisone 非使用群		Cortisone 25mg 使用群		Cortisone 50mg 使用群	
	12	13	16	19	11	22
肺	-	+	-	-	-	-
肝	+	-	-	+	+	-
脾	+++	+++	+++	+++	+++	++
腎	-	-	-	-	+	-

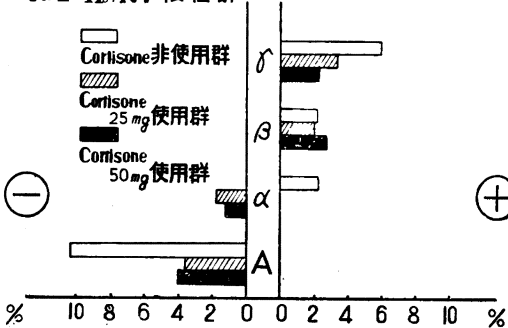
集落数: - 0, + 1~10, ++ 11~30, +++ 31~50, ++++ 51~100, +++++ 101~200, ++++++ 201~

第7表 実験前後における血清蛋白分層の増減度

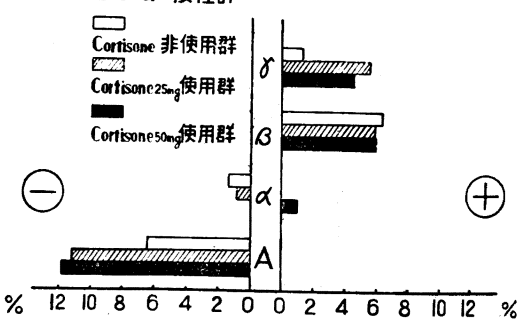
① 菌非接種群



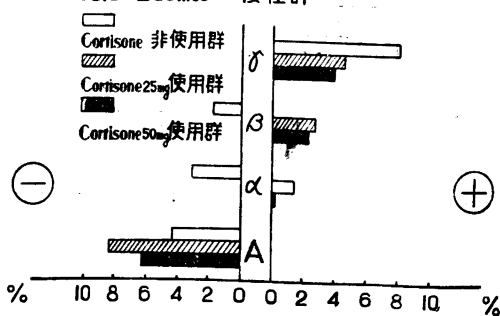
② H₃₇RV 接種群



③ BCG 接種群



④ Vole Bacillus 接種群



り軽微であつた。H₃₇RV 群では Cortisone 使用群が非使用群よりも病変が激烈で、且つ Cortisone 50 mg 使用群に 25 mg 使用群より強度の病変を見た。

(5) 臓器結核菌定量培養成績：第 6 表の如く H₃₇RV 群に集落数最も多く、ついで Vole Bacillus 群が少なく、BCG 群では甚だ少なかつた。臓器別には脾に最も多く発生し、肝・肺の順に少なくなり、腎には Vole Bacillus 群の 1 例を除いて全く集落発生が見られなかつた。又 BCG 群では Cortisone 使用量の差による差異は殆んどなく、Vole Bacillus 群、H₃₇RV 群では Cortisone 50 mg 使用群に集落数最も多く認められた。

(6) 血清蛋白分層変動の測定成績：第 7 表の如く、各群ともに Albumin の減少、 γ -globulin の増加が見られ、BCG 群では Cortisone 使用群に変動が大きく、H₃₇RV 群と Vole Bacillus 群ではかえつて Cortisone 使用群の方が変動が少ない傾向を認めた。

4 考 案

BCG 接種動物に対し Cortisone 使用の与える影響についての報告は甚だ少なく、Harris¹⁸⁾、Birkhang¹⁹⁾等による一、二の報告を見るのみであるが、われわれの実験においても、前記諸成績より明らかなように、Cortisone の有害なる影響はわれわれの観察範囲内においては殆んど認められなかつた。なお、本実験の実施に際しては、Cortisone の使用量、使用期間、或いは接種菌株の差異等は最も考慮すべき問題であるが、われわれの実験においては、Cortisone の総使用量 25 mg と 50 mg に分けて観察せる結果、BCG 並びに Vole Bacillus 接種群では両者の間に差異は少なく、ただ H₃₇RV 接種群においては 50 mg 使用群に、より強い病変が認められた。又われわれの Cortisone 1 日の使用量は 2.5 mg であるが、その BCG 接種動物に与える影響は 1 日量 11 mg を使用せる Harris 及び 1 日量 6.25 mg、全量 280 mg を使用せる Birkhang の成績と大体同一の傾向が認められた。

Vole Bacillus 接種動物に対し Cortisone の与える影響については、未だ報告を見ないのであるが、BCG 接種動物におけると大体同一の傾向が認められることは興味ある事実と思考せられる。なお、強毒人型結核菌接種動物においては、Cortisone 使用により病変の増悪が招来せられるに反し、BCG 或いは Vole Bacillus 等の弱毒結核菌接種動物においては、Cortisone 使用群が非使用の対照群に比し、病変が察る軽微であると言う事実の原因については、更に究明の必要があるものと思考せられる。

5 結 論

体重 350 g 前後の健康な雄性モルモットに BCG 及

び Vole Bacillus 各 0.1 mg、H₃₇RV 0.01 mg を接種した後、Cortisone を 25 mg 並びに 50 mg 使用して、かかる Cortisone 使用の与える影響を体重変動の測定、ツベルクリン反応検査、剖検時の肉眼的観察・病理組織学的検索・臓器結核菌定量培養・血清蛋白分層変動の測定等により検討し、次の結果を得た。

1) 体重増加、その他一般状態への Cortisone 使用による著しい影響は見られなかつた。

2) ツベルクリン・アレルギーは一般に Cortisone 使用により減弱する傾向を認めた。

3) BCG 及び Vole Bacillus 接種モルモットでは、Cortisone 使用により病理組織的に著明な病変の発生を認めず、又、臓器内結核菌定量培養においても生菌数の増加を認めなかつた。しかしながら、H₃₇RV 接種モルモットでは Cortisone 使用により病変の増悪が招来されるのを認めた。

4) 血清蛋白分層の変動では一般に Albumin の減少、 γ -globulin の増加が見られ、殊に BCG 接種群では Cortisone 使用によりその変動が著明であつた。

稿を終るに当り、病理組織学的検索に御支援をいただいた病理学教室、宮川正澄教授ならびに田嶋基男学士に謝意を表します。

文 献

- 1) Walner, L., Thompson, J. R. and Lichtenstein, M. R.: Am. Rev. Tuberc., 66: 161, 1952.
- 2) Kleinschmidt, R. F. and Johnston, J. M.: Ann. Int. Med., 35: 694, 1951.
- 3) Doerner, A. A., Naegele, C. F., Regan, F. D. and Cameron, G. F.: Am. Rev. Tuberc., 64: 564, 1951.
- 4) King, E. Q., Johnson, J. B., Batten, G. S. and Henry, W. L.: J. A. M. A., 147: 238, 1951.
- 5) Popp, C. G., Ottosen, P., Brasher, C. A. and Vernon, M.: J. A. M. A., 147: 241, 1951.
- 6) Fred, L., Levin, M. H., Rivo, J. B. and Barrett, T. F.: J. A. M. A., 147: 242: 1951.
- 7) Le Maister, C. A., Tompsett, R., Muschenheim, C., Moore, J. A. and Mc Dermott, W.: J. Clin. Invest., 30: 445, 1951.
- 8) American Trudeau Society: Am. Rev. Tuberc., 66: 254, 1952.
- 9) Karlson, A. G. and Gainer, J. H.: Disease of the Chest. 20: 469, 1951.
- 10) Le Maister, C. A. and Tompsett, R.: Am. Rev. Tuberc., 64: 295, 1951.
- 11) Le Maister, C. A. and Tompsett, R.: J. Exp. Med., 95: 393, 1952.

- 12) Michael, M. Jr., Cummings, M. M. and Bloom, W. L.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 75: 613, 1950.
- 13) Spain, D. M. and Molomut, N.: Am. Rev. Tuberc., 62: 337, 1950.
- 14) Lurie, M. B., Zappasodi, P., Donnenberg, A. M. and Swartz, I. B.: Science, 113: 234, 1951.
- 15) Solotorovsky, M., Gregory, F. J. and Stork, H. C.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 76: 286, 1951.
- 16) Spain, D. M., Molomut, N. and Haber, A.: Science, 112: 335, 1950.
- 17) Howes, E. L., Plotz, C. M., Blunt, J. W. and Ragan, C.: Surgery, 28: 172, 1950.
- 18) Harris, S. and Harris, T. N.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 74: 186, 1950.
- 19) Birkhang, K.: Am. Rev. Tuberc., 69: 511, 1954.
- 20) Wells, A. Q.: Lancet, 232, 1221, 1937.
- 21) 室橋豊穂・関 又蔵・高野袈裟男: 結核, 27, 32, 昭 27.
- 22) 電気泳動研究会編: 電気泳動研究会規定, 1950.

