

BCG接種乳幼児におけるツベルクリン反応の推移とS.C.C.法による全血液内結核菌増殖阻止作用との関係について

西村 忠史・岡田 浩

中 迫 一 三

大阪医科大学小児科学教室一主任 異教授

受付 昭和 31 年 5 月 16 日

〔1〕 緒 言

結核感染の有無をしらべるのに今日広くツベルクリン反応が用いられ、特に小児科領域にてはその価値は大である。結核のアレルギー反応の研究は Pirquet¹⁾ のツベルクリン・アレルギー以来研究され、特に焦点はいわゆるコッホ氏現象であり、ツベルクリン反応である。しかしながらこのツベルクリン反応により代表されるアレルギー反応と免疫との関係について意見が一致せず、Römer^{2)~10)}, Hamburger^{11)~15)} らの一派は結核免疫にはアレルギーの存在を必要とし、アレルギーなくして結核免疫なしと考えており、Selter^{17)~20)}, Rössle²¹⁾, Urbach²²⁾, Berger²³⁾ 等また同じ考えを有している。これに反してアレルギーと免疫とは解離できるという、Rich^{24)~28)}, Page²⁹⁾ の除感作の実験、最近では Four-estier³⁰⁾ は別個の現象を考えアレルギーは結核免疫にとり不必要なばかりか却つて有害であるといひ、Boquet³¹⁾, Rich, Duprez^{32)~33)}, Rothschild³⁴⁾ らことに Birkhaug³⁵⁾, Raffel³⁶⁾, Corper³⁷⁾, Canetti³⁸⁾ らの実験例を上げ Dubos³⁹⁾ も必ずしも一致するものでないといつている。これらに対して折衷説をとるものに Paretzky⁴⁰⁾, 戸田⁵⁷⁾らがある。

人体または動物が結核菌の感染をうけたときその全血液中の結核菌増殖阻止作用が発現または増加すること、また結核菌に対する増殖阻止は免疫成立とある程度一致することは Wright⁴¹⁾ の研究以来佐藤⁴²⁾, 伊藤⁴⁵⁾, 渡川・緒方⁴⁴⁾, 今村・渡川⁴⁵⁾, 室谷⁴⁶⁾ らにて認められ、一方結核予防対策としてBCG接種が施行されるがこのBCG接種の効果判定規準として実際にはツベルクリン・アレルギーの発現いかんが問題とされているだけである。

1924年 Wright⁴¹⁾ により創案せられた Slide Cell Culture 法 (S.C.C. 法と略) は主として今村教授門下の多数の研究者により改良され、知見が加えられてきた。

そこでわれわれはS.C.C.法を従前の報告に比べ、より客観的、定量的な阪大関教授、小谷助教授ならびに辻本氏の方法に則り、鳥型結核菌竹尾株を用い、乳幼児⁴⁷⁾ においてBCG接種後6カ月間に亘りツベルクリン・ア

レルギーと免疫との関係を観察したのでここに発表する。

〔2〕 対象および実験方法

1) 対象

BCG未接種健康乳幼児 (6カ月~6年8カ月まで) 18名のうち特に11名を選んだ。

2) ツベルクリン反応

竹尾結研製旧ツベルクリン原液を0.5%石炭酸加滅菌生理的食塩水で100倍および2,000倍に稀釈しその0.1ccを皮内注射し48時間後に発赤等を計測し、図表の如き判定規準に従つた。

反 応	判 定	記 号
発赤のみ 4 mm 以下	陰 性	(-)
発赤のみ 5 ~ 9 mm	疑 陽 性	(±)
発赤のみ 10 mm 以上	弱 陽 性	(+)
発赤10mm 以上で硬結伴うもの	中等度陽性	(++)
発赤10mm 以上で硬結二重発赤水泡等伴うもの	強 陽 性	(+++)

3) BCG接種

財団法人結核予防会結核研究所製乾燥BCGワクチン (1.0cc 中菌量0.4mg 含有) 0.1cc を左上腕皮内接種を行う。

4) 全血液内結核菌増殖阻止能力 (S.C.C. 法)

Wright の方法が発表されてからわが国でも今村教授門下のいろいろの方法があるがわれわれは阪大関教室辻本氏の方法によつた。すなわち特に従来の方法に比し留意せる点は、

○菌液作製にあたり菌塊磨砕を最小限にして遠沈を繰り返してできるだけ条件のよい単個菌液上清を作製した。

○Drea のような外来性の結核菌増殖阻止物質による培養器具汚染防止に細心の注意を払い、綿栓の使用をさけ器具清浄に留意す。

○従来ややもすると任意的であつた判定方法をできる

限り定量化した。

(i) 菌液調製

鳥型結核菌竹尾株を岡・片倉培地（マラカイト・グリーンを除く）に48時間培養したものから菌群を秤量しガラス球入りコルベンにて研磨，20mg/ccの滅菌生理的食塩水浮遊液を作り2800r.p.m. 10分間2回その上清を使用した。ただし2回の操作でほとんど単個菌がえられるが菌塊の混入しているときは遠沈の操作を繰り返す。

(ii) 培養および標本作製

ツベルクリン注射器を用い，肘静脈より採取した血液0.45ccを予め菌液0.05ccあて分注した小遠沈管に注入，直ちに数回吸入排出混和後その1滴を厚さ0.07mmの紙片を中央および両端に附したスライドガラスの紙片間2カ所に滴下，直ちに紙を付さないスライドガラスを重ね，血液円板の自然に凝固するを待つて，高压滅菌した流動パラフィン中に沈める。その後37°Cに24時間培養し，スライドガラスをとり出し染色に供した。すなわち流動パラフィンからとり出し引離した血液円板はほとんど紙の貼つてない方に附着してくるからこれを0.5%に氷醋酸を加えた10%フォルマリン液に約20分間浸し，溶血，殺菌，固定を行う。その後一夜水洗，なお残存する流動パラフィンを濾紙でとり，揮発油次でキシロールに10分間あて浸し洗い落す。乾燥後チール氏液にて2時間加温染色，30%塩酸加アルコールで脱色，水洗後メレンブルーで対比染色した。

(iii) 判定方法

従来からの判定方法は少しずつ相違しているが，一定の方式によつて血液円板の各部位を検鏡し，視野に現われる菌集落を，その構成する菌数の概数により(+)~(H)等の増殖度に区分し，最もしばしば現われる増殖度をもつて，標本全部の増殖程度と考えている方法が大多数である。その区分は人為的であるため，本来の増殖以上に印象づけられる危険が存する。

そこで客観的，定量的な方法と考えられる辻本氏の法に則り，血液円板の横径を10等分し，各視野に現われる菌集落の菌数を各個に算定し各視野毎の集落あたりの平均菌数の算術平均したものの対数値をその血液円板の菌増殖度とした。

[3] 実験成績

1) BCG接種群と対照群との平均菌増殖度の比較

(i) BCG接種前の菌増殖度と対照にした陽性健康者との比較

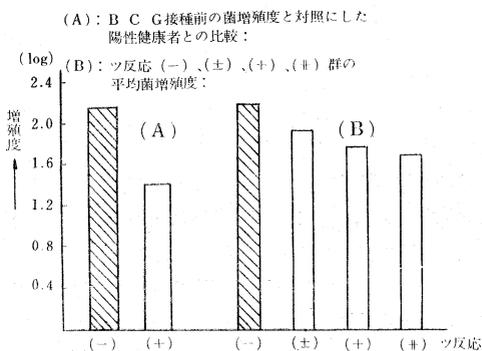
図1のAに示すようにBCG接種前すなわちツベルクリン100倍稀釈液にて反応陰性者と陽性健康者の菌増殖度を示したものである。縦軸に平均菌増殖度（対数値にて）を横軸にツベルクリン反応を示した。常用対数値にてツベルクリン反応陰性者2,136，陽性者1,305にして危

険率0.01以下で推計学的に有意義である。

(ii) ツベルクリン反応(-), (+), (H)群の平均菌増殖度

図4に示すように個々の場合にはなお検討を要する例もあれど，負の相関性が見られ，ツベルクリン反応の発赤の小なるほど阻止力弱く，すなわち菌増殖よく，発赤等反応の大なるほど増殖阻止の強い傾向にある。

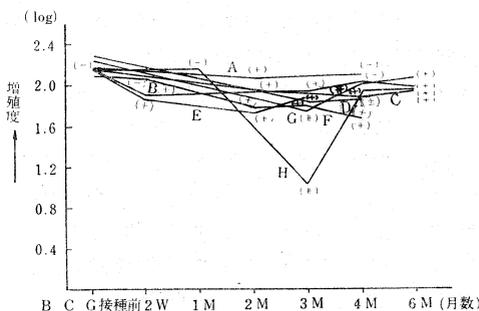
図1 BCG接種群と対照群との平均菌増殖度の比較



2) 個々の実験例における菌増殖度の推移

6カ月間にわたり観察した11例中とくに8例を選びその推移を示した。すなわちBCG接種後はツベルクリン反応は2,000倍稀釈液にて施行した。ツベルクリン反応による全血液内菌増殖阻止作用への影響を考慮に入れ，採血，S.C.C.実施後反応を行つた。AおよびBは4カ月目に陰転した例である。陽転とともに増殖度は低下，再び陰性化とともに増殖度の上昇すなわち阻止作用の弱まるのが見られる。C D E F H例は陽転とともに増殖度の低下，すなわち阻止作用が現われ，とくにFおよびG例ではツベルクリン反応(H)で最もつよい阻止作用を示した。なおG例はツベルクリン反応(H)にかかわらず3カ月にて最もつよい阻止作用を示しながら4カ月後にて阻止作用の弱まるのが見られる。一般に見てBCG接種後，2,3カ月にて増殖度の低下，すなわち阻止作用がうまく現われ4カ月以後菌増殖阻止作用は弱まる傾向にある。

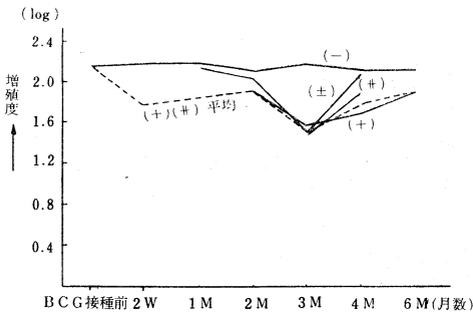
図2 個々の実験例における菌増殖度の推移



3) BCG接種群と対照群との平均菌増殖度の推移

BCG接種後6カ月にわたる平均菌増殖阻止作用の推移と対照としたツベルクリン反応陰性群の阻止作用の推移を比較すると、図3の如くで、対照のツベルクリン陰性群(実線にて示す)はほぼ一定した増殖度の推移を示しているが、これに比しツベルクリン反応陽転群(点線にて示す)たるBCG接種群は明らかに阻止作用を示して推移している。しかし図2に示しただけの差は認められぬ。そして菌増殖度はBCG接種3カ月後にて最も低く、すなわち最もつよい阻止作用を示し、4カ月後より6カ月後と阻止力は弱まっている。またツベルクリン反応(±)群はその増殖阻止作用において、ほぼ陰性群と(+)群との間をとるようであるが、ツベルクリン反応陽性度差による推移と阻止作用の推移とは平行しておらな

図3 BCG接種群と対照群との平均菌増殖度の推移



4) ツベルクリン反応の強さと菌増殖度との関係

ツベルクリン反応の強さと菌増殖度との関係をまとめて見ると図4の如くで、菌増殖度は比較するに便宜上対数値を次のようにに記号化した。すなわち図1Bより、

{	ツ反応(-)のものの平均菌増殖度……	S.C.C. (#)
	ツ反応(±)	S.C.C. (±)
	ツ反応(+)	S.C.C. (+)
	ツ反応(+)	S.C.C. (±)

とした。

ツベルクリン反応の強さと菌増殖度との関係は概して相関する傾向にあるが、個々の例にては相当相違する場合がある。すなわちBCG接種後4カ月において、ツベルクリン反応(-)でツベルクリン反応(+)のものの程度しか菌増殖を示さぬもの、およびツベルクリン反応(+)でツベルクリン反応(±)のものの程度の菌増殖を示すものがある。

〔4〕 総括ならびに考案

ツベルクリン・アレルギーと免疫とに関する研究として、われわれはBCG接種後の全血内結核菌増殖阻止作用とツベルクリン反応と関係および推移を観察した。BCG接種が今日結核への免疫の附与、発病防止に大いなる役割を果していることはいうまでもない。BCG接種

図4 ツ反応の強さと菌増殖度との関係

下記増殖度(S.C.C.)の(#),(#),(+),(±)は図表1の(B)の平均対数値を記号化したものである。

ツ反応(-)のものの平均増殖度対数値	-S.C.C. (#)	}とす
ツ反応(±)	-S.C.C. (±)	
ツ反応(+)	-S.C.C. (+)	
ツ反応(+)	-S.C.C. (±)	

BCG接種前: 11名

	S.C.C.	#	#	+	±
T.R					
(-)		9	2		

接種後2週: 4名

	S.C.C.	#	#	+	±
T.R					
(-)		2			
(+)				2	

1カ月: 3名

	S.C.C.	#	#	+	±
T.R					
(-)		2			
(+)		1			

2カ月: 11名

	S.C.C.	#	#	+	±
T.R					
(-)			1		
(±)			1		
(+)			5	4	

3カ月: 11名

	S.C.C.	#	#	+	±
T.R					
(±)					1
(+)			2	3	2
(#)		1			2

4ヶ月: 14名

	S.C.C.	#	#	+	±
T.R					
(-)		2			1
(±)		1	1		
(+)		1	3	1	2
(#)			1		1

6ヶ月: 14名

	S.C.C.	#	#	+	±
T.R					
(-)		2	1		
(+)		3	6	2	

後のツベルクリン反応の推移も、柳沢、熊谷の報告等、多くの研究者により報告されているが現在の方法で初回免疫の場合、ツベルクリン・アレルギーは2週間後位から現われ始め1ないし3カ月の間に最高に達し、以後漸次弱化するものと見られ、BCGの如き弱毒菌は比較的早く死滅するため、ツベルクリン・アレルギーや免疫は減弱の一歩を辿るように考えられている。そして結核菌発育阻止作用に関してはA.E. Wright⁴¹⁾の「毛細管培養法」および「スライド・セル・カルチュア法」による結核菌培養法を嚆矢として、わが国にては今村教授門下の研究多く、佐藤⁴²⁾は動物実験にて発育阻止作用は結核罹患と特異的關係があつて他の諸種病原体をもつて免疫処置を施したものには現われないことを明らかにした。伊藤⁴³⁾は動物を種々の免疫方法にて結核免疫を施し、その該試動物の全血液内に出現する結核菌増殖阻止作用を比較研究し、特に生結核菌およびBCG菌をもつて免疫せる動物の全血液中に結核菌増殖阻止作用の出現が見られ死菌免疫動物では発現せず、ことにツベルクリン・アレルギーと結核菌増殖阻止作用との関係は一定平行関係を認め、死菌免疫ではこの関係を認めず、かつツベルクリ

ン反応の出現不定にして阻止作用出現ほとんど認め難いと報告している。緒方⁴⁸⁾は動物実験にて、発育阻止作用は種々の条件で影響をうけるといい、渋川および緒方⁴⁴⁾は健康成人血液中で、人型結核菌は発育するが充分でない。すなわち発育はするが幾分抑制または阻止され、ツベルクリン反応陽性度のつよいものには結核菌発育が阻止せられる傾向が多いと述べ、渋川⁴⁹⁾は結核患者でも病勢進行して、Negative Anergie となると菌発育良好となると報告している。宝来⁵⁰⁾は結核動物、結核患者の血漿内において発育阻止作用が存在し、赤血球はむしろ結核菌発育を促進することを証明した。

最近では結核胸部外科手術前後の血液中菌増殖阻止作用等と報告もされているが、阪大公衆衛生学教室辻本氏⁴⁷⁾は、従来よりのS.C.C.法に対し検討、改良を加えより客観的、定量的な方法を発表し、さらに動物実験により健康モルモット全血液内で結核菌は培養1日目から4日目まで少なくとも見掛の上で対数的増殖を示し、従来報告せられたような個体差の認められぬことを述べ、さらに血漿内で、あるいは透析ツベルクリン心臓内注射が全血内の結核菌増殖に与える影響等を報告している。

小児科領域における全血液に関するS.C.C.の実験は少なく、結核に関してSonak⁵¹⁾が結核「アレルギー」と血中結核菌発育防禦素の関係を研究し、わが国にては西川⁵²⁾の乳児に関する広汎な研究がある。ことにBCG接種により生ずる免疫を全血液内結核菌増殖阻止能力の検査法、すなわちS.C.C.法にて検査したる者に島尾⁵³⁾、本間⁵⁴⁾、不破⁵⁵⁾、西川⁵²⁾、鈴木⁵⁶⁾らがあるが、われわれの成績も大体、島尾、西川、鈴木という如く接種後3ヵ月において最大の阻止力を示し、ツベルクリン・アレルギーと全血液内結核菌増殖阻止能力は鈴木という如く概して平行関係にあるも、本間の指摘するように、平行関係必ずしも成立せぬことも個々の例において認められた。

〔5〕 結 語

BCG接種乳幼児におけるツベルクリン反応の推移とS.C.C.法による全血液内結核菌増殖阻止作用を従来の方法に比し、より客観的、定量的な辻本氏の方法によりBCG接種後6ヵ月間にわたり観察し次のような結果をえた。

(1) BCG接種後ツベルクリン反応の陽性転化率の増大につれて全血液内結核菌増殖度の低下、すなわち菌増殖阻止作用が認められる。

(2) ツベルクリン反応の強さと全血液内結核菌増殖阻止作用とは概して相関する傾向にある。

本要旨は昭和30年3月31日 文部省科学研究費結核研究班、発病研究科会昭和30年度第2回分科会、昭和30年

9月3日 日本小児科学会大阪地方会、昭和30年6月1日 大阪医科大学医学総会で述べた。

(稿を終るに臨んで御指導を賜つた巽教授、阪大公衆衛生学教室関教授、小谷助教授、ならびに奈良医大内科教室辻本助教授に深甚なる謝意を表します)

文 献

- 1) C. Pirquet : W. Klin. W. 1928.
- 2) Römer : Beitr. Z. Kl. Tbk., 11, 79, 1908.
- 3) Römer : Beitr. Z. Kl. Tbk., 17, 281, 1910.
- 4) Römer : ibid. 17, 287, 1910.
- 5) Römer : ibid. 17, 365, 1910.
- 6) Römer : ibid. 17, 383, 1910.
- 7) Römer : ibid. 17, 427, 1910.
- 8) Römer : Beitr. Z. Kl. Tbk., 22, 265, 1912.
- 9) Römer : Berl. Kl. Wschr., 46, 813, 1909.
- 10) Römer : Tuberkulosis, 9, 128, 1910.
- 11) Hamburger : Beitr. Z. Kl. Tbk., 12, 259, 1909.
- 12) Hamburger : ibid. 18, 163, 1911.
- 13) Hamburger : Wien. Kl. Wschr., 46, 9, 1933.
- 14) Hamburger : Med. Klin., 30, 353, 1934.
- 15) Hamburger : Münch. med. Wschr., 59, 631, 1912.
- 16) Selter : Zscher. f. Tbk., 67, 48, 1933.
- 17) Selter : Dtsch. med. Wschr., 62, 917, 1936.
- 18) Selter : Zbl. Bakt., 132, 404, 1934.
- 19) Selter : ibid. 132, 45, 1934.
- 20) Selter u Weiland : Klin. Wschr., 14, 948, 1935.
- 21) Rössle : W. Klin. W., 45, Jq. Nr. 20, 1932.
- 22) Urbach : Klinik u Therapie der Allergischen Krt. Wien, 1935.
- 23) Berger : Verh. d. Deut. Path. Gesell., Bd. 30, 1937.
- 24) Rich, A.R. : Arch. Intern. Med., 43, 691, 1929.
- 25) Rich, A.R. & McCordock, H.A. : Bull. Johns Hosp., 44, 274, 1920.
- 26) Rich, A.R. : Bull. Johns Hopk. Hosp., 47, 189, 1930.
- 27) Rich et al. : Bull. Johns Hopk. Hosp., 53, 172, 1933.
- 28) Rich, A.R. : The Pathogenesis of Tuberculosis, 1944.
- 29) Pagel : J. of Path. and Bact., Vol. 44, 643, 1937.
- 30) Fourestier, M. et Blancque-Belair, A. : Presse

- médicale, 60 (31), 669, 1952.
- 31) Boquet, A. : Dr. Soc. Biol., 112, 1168, 1933.
 - 32) Duprez, C. : C. r. Soc. Biol., 110, 127, 1932.
 - 33) Duprez, C. : C. r. Soc. Biol., 117, 832, 1934. 117, 834, 1934.
 - 34) Rothschild, H. et al. : Bull. Johns Hopk. Hosp., 54, 232, 1934.
 - 35) Birkhang, K. : Acta Tuberc. Scandinav., 11, 199, 1937. 13, 163, 1939. 14, 250, 1940.
 - 36) Raffel, S. : Am. Rev. Tuberc., 54, 564, 1946.
 - 37) Corper, H.J. : J. inf. Dis., 66 (1), 23, 1940.
 - 38) Canetti, G. : L'allergie tuberculeuse chez l'homme, Flammarion, 1946.
 - 39) Dubos, R. : Am. Rev. Tuberc., 60, 670, 1949.
 - 40) Paretzky: Am. Rev. Tuberc., 353, 1917.
 - 41) A.E. Wright: Lancet, 206(5240), 218, 1924.
 - 42) 佐藤: 実験医学雑誌, 10, 871, 大15.
 - 43) 伊藤: 結核, 8, 291, 昭5.
 - 44) 緒方・渋谷: 結核, 10, 247, 昭7.
 - 45) 今村・渋谷: *ibid.* 11, 209, 1933.
 - 46) 室谷: 労働科学, 22 (4), 264, 1947.
 - 47) 辻本: 大阪大学医学雑誌, 4, 4, 263, 昭27.
 - 48) 緒方: 結核, 10, 117, 昭7.
 - 49) 渋谷: 結核, 11, 63, 昭8. 11, 209, 昭8.
 - 50) 宝来: 結核, 14, 370, 昭11. 17, 621, 昭14.
 - 51) Sonak : Zbl. Bact. Orig., 115, 173, 1930.
 - 52) 西川: 結核, 14, 8, 671, 1936.
 - 53) 島尾: 金沢結核研究年報, 昭8, 上.
 - 54) 本間: 結核, 26, 617, 1951.
 - 55) 不破: 医学と生物学, 17, 208, 1950.
 - 56) 鈴木: 結核, 29, 8, 279, 1954.
 - 57) 戸田: 実地医学と臨床, 13, 7, 1936. 実地医学と臨床, 14, 11, 1937.