

# 抗菌免疫に及ぼす年令の影響

原 澤 道 美・前 田 道 明

国立予防衛生研究所結核部一部長 柳 沢 謙

吉 田 清 一

東京大学医学部冲中内科教室一教授 冲 中 重 雄

受 付 昭 和 31 年 5 月 19 日

## I 緒 言

さきに著者らは<sup>1)</sup>、年令の異なる3群のモルモットの皮下に人型結核菌H<sub>2</sub>株の0.1mgを皮下接種し、6週後剖検し、肺、肝、脾各臓器10mg中の生菌数を比較検討したところ、A群(生後3年半)、B群(生後6カ月)、C群(生後3週)のモルモットの順に生菌数の多いことを認めた。さらに、これら3群のモルモットの静脈内に、人型結核菌H<sub>2</sub>株の0.01mgを接種し、肺、肝、脾各臓器中の生菌数の消長を経過を追って追求することにより、これらの3群の間にその宿主-寄生体関係に如何なる差があるかを観察した。そしてその結果、上述の如く皮下感染実験の成績が3群によつてそれぞれ異なるのは、免疫発現機構のCapacityがそれぞれ3群によつて異なり、A群ではそれが最も強く、C群では最も弱いからであるという所見がえられた。

次に、この所見をさらに明らかにするために、これらの3群のモルモットにつき、BCG免疫効果を種々検討したところ、さらに上述の見解を裏付ける知見をえたので、その結果をここに報告する。

## II 実験方法

動物：A群—生後3年半以上(体重700~1010g)、B群—生後6カ月(体重350~440g)、C群—生後3週(体重180~240g)の3群のモルモットをそれぞれ実験に使用した。

BCG生菌による免疫：これらのモルモットの左下腹部皮下に、Sauton培地8日培養のBCGを凍結乾燥し保存してあるものを蒸溜水で再浮遊し、2mg/mlの菌液としたものの、0.5mlを注射して免疫した。動物1匹あたりの接種量は1mgで、 $48 \times 10^6$ 生菌単位であつた。

BCG接種6週後、100倍OTをもつてツベルクリン・アレルギーを調査してから、対照群とともに、強毒人型結核菌H<sub>2</sub>株をそれぞれ皮下または静脈内に感染した。

皮下接種法による感染：凍結乾燥して保存してある菌力、生菌単位数既知のH<sub>2</sub>株の、0.1mg(0.4ml)を、右下腹部皮下に接種した。動物1匹あたりの接種生菌単位数は $19 \times 10^5$ であつた。H<sub>2</sub>接種後6週目に全動物を

屠殺剖検し、肉眼的にりんば腺、および各臓器の結核性病変を観察し、それと同時に肺、肝、脾の定量培養を行い、その10mg中の生菌数をそれぞれ算定した。

静脈内接種法による感染：上述のH<sub>2</sub>株の0.01mg(0.4ml)ずつを足静脈内に接種した。動物1匹あたりの接種生菌単位数は $19 \times 10^4$ であつた。H<sub>2</sub>静脈内注射後24時間、1、2、4週目に各群の動物を2~3匹ずつ屠殺剖検し、肉眼的に結核性病変を観察するとともに肺、肝、脾の定量培養を行い、その10mg中の生菌数をそれぞれ算定した。

定量培養の方法：250~350mgの臓器片を乳鉢ですりつぶし1% NaOH溶液を加えて100mg/mlの乳剤としこれを蒸溜水で10段階階稀釈を行い、各段階階稀液0.1mlを小川培地3本に培養して1本の培地に100以下の集落数を生じた段階から各臓器10mg中の生菌単位数を換算した。

## III 実験成績

### 1. 皮下感染実験の成績

肉眼的所見は表1に示す如くで、各群とも対照(表略前報<sup>1)</sup>)に比すれば遙かに病変は少ないが、特にA群ではそれが著明で、ほとんど病変は認められなかつた。BC両群の間には、りんば腺の病変がややB群の方が少ないかと思われる程度で、大差は認められなかつた。

定量培養の成績は表2にみる如くで、BCG免疫群では、いずれも菌の増殖は著明に阻止されており、対照群のそれとは大いに異なるが、3群の間に大差は認められなかつた。

### 2. 静脈内感染実験の成績

その成績は図1~図3に示す如くである。

H<sub>2</sub>静脈内注射後24時間目の各臓器10mg中の菌数は対照群、免疫群いずれもほぼ同じで生残BCGの菌数または前処置による影響はほとんどないと思われる。まず肺では、その10mg中に約10の密度で撒布されたH<sub>2</sub>菌は、対照群では2週後にはその約100倍に増殖するに反し、BCG免疫群では3群とも増殖が強く抑制せられ、4週間目まで24時間値とほぼ同じOrderで経過している。肝でも同様の傾向がみられ、すなわち、その10mg

表 1. 皮下感染実験の剖検所見

群 別		A 群 (生後3年半)					B 群 (生後6ヵ月)								C 群 (生後3週)								
動物番号		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7		
感 染 前 ツ・アレルギー		18	19	19	17	13	19	19	22	18	17	15	19	18	20	21	25	19	18	15	17		
体重増加率		1.40	1.27	1.40	1.14	1.14	1.64	1.69	1.55	1.74	1.71	1.80	1.38	1.86	2.70	3.34	2.54	2.84	3.00	3.15	3.10		
剖 検 所 見	局 所	-	u	u	-	-	u	u	A	-	-	A	-	-	-	-	A	-	-	A	-		
	り ん ば 腺	しつべき	-	-	-	+	+	+	卍	+	+	卍	+	卍	+	卍	+	卍	+	卍	+	卍	
		左右	-	-	+	+	+	+	+	+	卍	卍	+	+	-	-	卍	+	+	卍	卍	+	+
	そ けい	左右	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	卍	卍	-	-
		左右	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-
	し ふ	左右	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	卍	+	+	卍	卍	卍	+	
		左右	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	
	も ん み や く き か ん	みやく	-	-	-	-	+	卍	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
		かん	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-
	内 部 器 官	肺	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	卍	+	+	+	+	+	-
肝		-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
脾		-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	卍	+	+	+	+	+	+	+	+	
脾重(g)		0.8	0.9	1.1	1.7	1.5	1.2	1.2	1.5	1.2	0.9	1.2	1.1	1.2	1.3	1.1	1.2	1.2	1.3	0.8	1.1		
脾重g/体重g	0.07	0.08	0.10	0.19	0.13	0.17	0.17	0.24	0.16	0.15	0.18	0.20	0.17	0.24	0.18	0.23	0.22	0.24	0.13	0.19			

注 {A 膿瘍 りんば腺の腫大 {+ 小豆大 大豆大 卍 大豆大 そらまめ大 内部器官の病変 {+ ごく少 卍 一見して数個の結節 卍 多数の結節 の肉眼的結節

表 2. 皮下感染実験の定量培養成績

群 別	生 菌 数 動物番号	臓器 10mg 中の生菌数					
		BCG 感作群			対 照 群		
		肺	肝	脾	肺	肝	脾
A 群 (生後3年半)	1	0	0	1	0	1	0
	2	0	0	1	0	0	1
	3	0	0	0	25	7	99
	4	0	0	2	6	3	92
	5	0	0.3	50	0	2	0
B 群 (生後6ヵ月)	1	0	0	1	0	15	1070
	2	0	0	1	c	18	425
	3	1	1	15	2	8	120
	4	0	0	0	1	91	666
	5	0	0	0	42	47	117
	6	21	0	146	0	36	1370
	7	2	0	0	1	150	1730
	8	0	0	6	0	1	65
C 群 (生後3週)	1	0	0	0	500<	1620	1730
	2	17	0	18	35	1070	2800
	3	0	0	8	105	173	2500
	4	c	0	19	102	67	210
	5	0	7	18	-	-	-
	6	0	0	49	-	-	-
	7	0	0	0	-	-	-

注: c 判定不能

中に約 $10^2$ の密度で撒布された  $H_2$  菌は、対照群では2週後その約100倍に増殖するに反し、BCG免疫群ではいづれも増殖が強く抑制せられ、特にA群ではそれが著しい。脾においても、肺、肝と同様、BCG免疫群は対照群に比し菌の増殖は抑制せられているが、しかし、これら

図1. 静脈内感染実験における肺10mg中の生菌数の消長

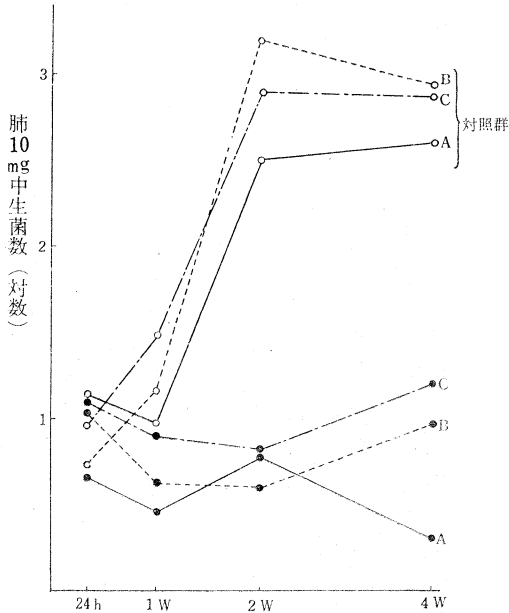


図2. 静脈内感染実験における肝10mg中の生菌数の消長

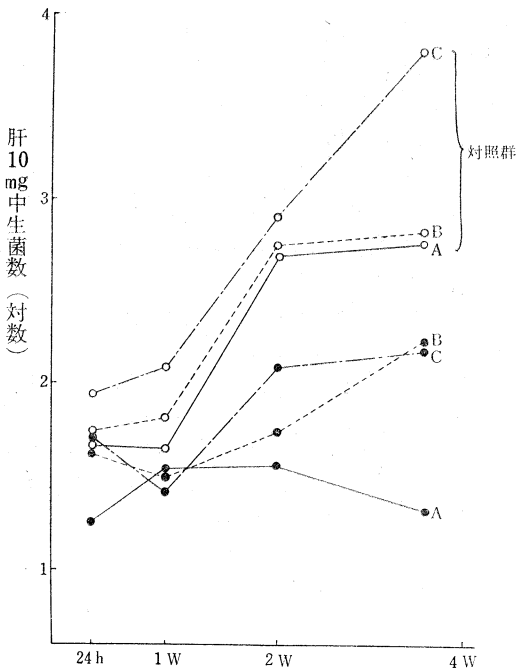
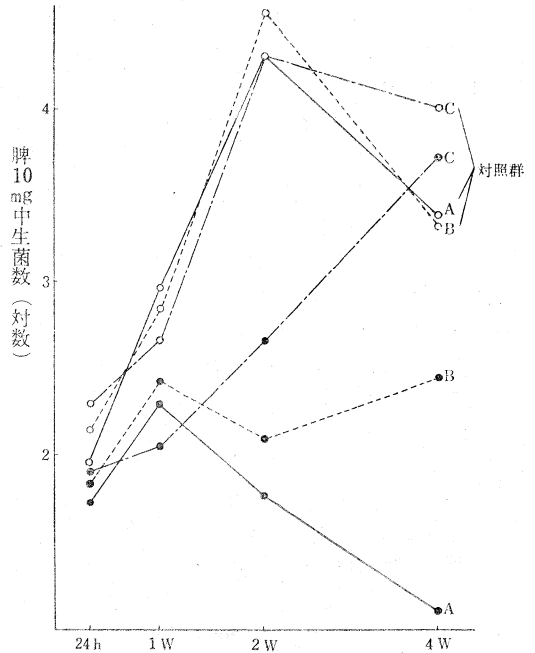


図3. 静脈内感染実験における脾10mg中の生菌数の消長



の3群の間で、その免疫現象には明らかな差が認められた。すなわち、その10mg中に約 $10^2$ の密度で撒布された  $H_2$  菌は、A群では1週後軽度増殖するが、2週、4週と減少し、4週後には24時間値の約 $1/10$ に減少する。これに反し、C群では、対照群に比すればその増殖の時期は遅れているが、漸次菌は増殖し、2週後には24時間値の約10倍、4週後には約100倍に増殖し、4週後のそれは対照群とほぼ同じ Order に及んでいる。

B群の消長は丁度両者のほぼ中間にあり、菌の増殖は極めて僅かで、4週後のそれは24時間値をやや上廻る程度である。

なお結核性病変の肉眼的変化は、3群とも、免疫群と対照群との間には菌数の消長で示されるほど明らかな差異は認められなかった。

IV 総括ならびに考案

結核症の免疫の表現としては、攻撃菌を直接静脈経路を介して免疫動物の臓器に撒布し、その後の感染菌の消長を病変の推移とともに追求することが、定量的でもあり、また方法論的にも最もすぐれているとされている<sup>3)</sup>。著者らは、BCGで免疫処置をした年令の異なる3群のモルモットに、人型結核菌  $H_2$  株を静脈内感染させ、肺、肝、脾各臓器中の生菌数の消長を経過を追って追求し、これらの3群の間にその免疫力発現能力に如何なる差があるかを検索した。その結果、上述の如く、その免疫力発現能力は3群でそれぞれ異なり、A群(生後3年半)、B群(生後6カ月)、C群(生後3週)のモルモット

トの順に、それが強いことが、脾の成績より明らかに認められた。

この成績は、先に著者らが認めた非免疫モルモットの脾、肝各 10mg 中の菌数の消長から<sup>2)</sup>、すなわち、宿主の著しい防禦力を受けることなく菌の増殖する感染後 1～2 週では、その菌数の消長は 3 群ともほぼ同じであるが、それが 3 群によつてそれぞれ異なるのは、感染菌自体により宿主に免疫が発現する感染後 4 週目に到つてからであるという成績から、十分考えられることである。

なお、この免疫力発現能力の最も弱い C 群においても対照群に比すれば菌の増殖は明らかに抑制せられており BCG の免疫効果は著明に認められた。この所見は、同じ H<sub>2</sub> 株の皮下感染実験の成績からも認められた。

皮下感染実験においては、上述の静注感染実験の成績と異なり、これらの 3 群の間に各臓器中の生菌数に差は認められなかつたが、これは、この実験方法がすでに指摘せられている如く<sup>5)</sup>、感染菌の侵入を防ぎ、またその体内における増殖を阻止するという 2 つの現象の組合せであり、しかも、これには再感染局所におけるアレルギー反応が関与しているために、その現象はさらに複雑で、この場合には菌の消長の面から免疫力を解析することが困難な点を考え合わせると、その実験条件の不備にその責を負わすべきではないかと思われる。しかしこの実験でも、肉眼的結核性病変の程度は、A 群が最も少なかつた。

さて、著者らは、第 1 報において<sup>1)</sup>、年齢によつてその感染様式が異なることを臓器中の菌数の消長を指標として認め、さらに第 2 報<sup>2)</sup> および本報において、その年齢差の主役を占めるものは、感染菌によつて生ずる宿主の免疫発現機構の Capacity の差であることを明らかにした。すなわち、年齢によつてその感染様式が異なるのは、Rich<sup>6)</sup>、Lurie<sup>7)</sup> らのいわゆる自然抵抗性が異なるのではなく、抗原抗体反応が主役を演ずると考えられる免疫力が、それぞれ異なっているからであるといえる。

Ratcliffe<sup>8)</sup>、ラッテ、マウス、モルモット、ハムスター等にそれぞれ有毒菌を吸入させ、経過を追つて各臓器を病理組織学的に検索したところ、これらの動物で各臓器別の病変に個体差が出てくるのは、感染後 4 週からであり、したがつて、これらの動物により感染の経過が異なるのは厳密な意味の自然抵抗性の差というよりはむしろ各動物により免疫発現機構の Capacity が異なるからであるとの見解を報告している。この種の異なる動物についての自然抵抗性の差については、著者らも引き継ぎ実験を進めているが、少なくとも同種動物の間に見られる年齢による感染経過の差異についての以上の実験成績は、Ratcliffe<sup>8)</sup> の主張するような見解を、支

持していると思われる。

しかし一方、この種の異なる動物の感染様式の差については種々の異論がある。すなわち、Wessels<sup>9)</sup> は喰菌単核細胞の生物学的性状の差異に、その抵抗性の差の理由を求め、また Lurie<sup>7)</sup> は自然抵抗性の強い動物の宿主—寄生体関係は、共生現象ではないかとしている。さらに Rich<sup>6)</sup> は、動物の体温、組織の pH、組織内酸素含有量のような物理的な因子や、体液の化学的成分と菌の発育要素との関係等も考慮に入れており、このいわゆる自然抵抗性の本態、メカニズムについては、さらに検討を要する問題と思われる。

## V 結 語

A 群 (生後 3 年半)、B 群 (生後 6 カ月)、C 群 (生後 週) の 3 群のモルモットの皮下に、それぞれ BCG の 1 mg (v. u.  $48 \times 10^6$ ) を接種し、6 週後、人型結核菌 H<sub>2</sub> 株の 0.1 mg (v. u.  $19 \times 10^5$ )、0.01 mg を皮下または静脈内に感染させ、感染菌の消長を臓器培養法によつて定量的に追求することにより、これら 3 群の間にその免疫力発現能力に如何なる差があるかを検索した。その結果、いずれの群においても BCG の免疫効果は明らかに認められたが、その免疫力発現能力はこれらの 3 群によつてそれぞれ異なり、A 群、B 群、C 群の順に、それが強いことが認められた。

御指導、御校閲を得た柳沢部長、沖中教授、尼子医長および種々の御援助を得た仲本、松山、小山の諸氏に深く感謝する。

## 文 献

- 1) 原沢 他：実験的結核症に於ける、年齢による自然抵抗性の差異について、第 1 報、結核、31:
- 2) 原沢 他：同上、第 2 報、結核、31:
- 3) Pierce, C. H., Dubos, R. J., & Schaffer, W. B.: J. Exp. Med., 97: 189-205, 1953.
- 4) 橋本達一郎 他：日本細菌学雑誌, 10: 219-223, 1955.
- 5) Dubos, R. J.: Am. Rev. Tub., 60: 670-674, 1949.
- 6) Rich, A. R.: The Pathogenesis of Tuberculosis, Charles C. Thomas, 1951.
- 7) Lurie, M. B.: Am. J. Med., 9: 560-591, 1950.
- 8) Ratcliffe, H. L., & Palladino, V. S.: J. Exp. Med., 97: 61-67, 1953.
- 9) Wessels, C. C.: Am. Rev. Tub., 43: 449-474, 637-662, 1941.