

BCG ワクチン経口接種による免疫効果

許 書 刀

台湾血清疫苗製造所 (所長 嚴智鐘教授)

蔡 秀 華

台北市衛生院試験室 (院長 王 洛博士)

受付 昭和 31 年 7 月 4 日

緒 言

著者は先に新生児モルモットに BCG を経口接種し、菌が体内にとり入れられるとリンパ腺内で一定の周期をもつて消長することを見た¹⁾。さらに著者らは、人の新生児においても、経口接種によつて、他の接種方法、すなわち皮内法や多刺法、乱切法等に匹敵するツベルクリン・アレルギーを呈するのを見た²⁾。モルモットにおいては、リンパ腺内で菌が増殖するにもかかわらず、諸学者^{3)~6)}の成績と同じく、ツベルクリン反応は微弱であった。従来、結核予防接種においては、ツベルクリン・アレルギーは免疫力に平行するものとして、予防接種の効果の成否判定に用いられてきたが、一方、ツベルクリン・アレルギーは必ずしも免疫力を代表しないという説もある。そこで著者らは、経口免疫においても接種菌量と接種回数とを増すことによりツベルクリン・アレルギーを増強せしめうるか否かを検討するとともに、Streptomycin 耐性 H₃₇Rv 株を攻撃菌として使用し、経口免疫の効果をも、直接的に判断しようと考え、本実験を行った。

実験材料および方法

1. 対象: 新生児モルモットを 4 群に分け、各群を 4~6 疋とし、生後当日または翌日 BCG ワクチンを次のように投与した。

- 第 I 群 50mg, 1 回, 経口接種
- 第 II 群 50mg, 4 回, 毎日経口接種 (計 200mg)
- 第 III 群 10mg, 1 回, 筋肉内注射
- 第 IV 群 対照, 非接種群

2. ワクチン: 当 BCG 製造室で作つた No. 181 を用いた。生菌単位数は $16 \times 10^8 / \text{mg}$ であつたから、各群 1 疋宛り接種生菌単位数は、それぞれほぼ 8.0×10^8 , 3.2×10^9 および 1.6×10^7 となる。このワクチン 0.1mg を 100 γ / ml Streptomycin (以下 SM と略) 含有の Löwenstein-Jensen 培地に接種したが、1 カ月後においても集落をえられなかつた。

3. 攻撃菌: H₃₇Rv の SM 耐性菌を 100 γ / ml に SM を含む馬鈴薯培地に培養し、その 3 週間培養から菌液を作つた。この菌液の生菌単位数は、100 γ / ml SM 含有

Löwenstein-Jensen 培地において $13.5 \times 10^8 / \text{mg}$ を示した。この強毒菌接種による攻撃は、生後 (免疫群では免疫後) 6 週目に、1 疋宛り 5mg 経口投与によつて行われた。攻撃後の観察は 4 週とし、4 週末、したがつて生後 10 週目に、全群の動物を屠殺して、臓器およびリンパ腺内の攻撃菌の増殖状態を調べた。

4. ツベルクリン反応: Denmark 製 PPD の 100 TU および 1,000 TU を用いて、生後 4, 6, 8 および 10 週に反応を検査した。ただし、100 TU PPD は旧ツベルクリン 100 倍液に相当する。反応の判定は注射後 48 時間目における硬結の大きさ (mm) をもつてした。

実験成績

1. ツベルクリン反応: PPD 100 TU を用いた成績では、第 4 週まではいずれの接種群においてもほとんど同様に、顕著なツベルクリン反応の陽転を示したものは甚だ少なく、第 6 週目に、各接種群のそれぞれ 1~2 疋宛りが 5mm 以上の反応を示した程度である。しかし PPD 1,000 TU を用いた場合には、経口接種群の半数以上、筋肉内接種群の全部に、かなりはつきりした硬結を示した。

有毒菌による攻撃を受けた第 6 週目以後においては、経口接種群では第 8 週以後、急激に反応の増強したものが見られ、第 10 週目には 1,000 TU の PPD に対して、反応部中央に壊死や水泡をきたすものも見られた。これらの強い反応は、有毒菌の重感染に基くものと思われる。しかし、筋肉内接種群においては、第 10 週までツベルクリン反応の急激な増強は見られなかつた。対照群では半数のみが生後 10 週まで生存し、いずれも有毒菌感染後 1,000 TU の PPD に対しては明らかな反応を示したが、100 TU の PPD に対しては著明な反応を示さなかつた。成績は表 1 の如くである。

2. 解剖所見: 前報告にも述べたように、経口接種の場合には頸部リンパ腺での菌増殖が著明であるが、本実験における有毒菌経口感染においても、頸部リンパ腺の肉眼的変化は特に顕著であつた。対照群においては、このリンパ腺の極度の腫脹が認められ、重量において免疫動物の 10 倍以上に達するものもあり、かつ著明な乾酪化が見られた。免疫群においては、免疫方法の如何にかかわらず

表1 Tuberculin allergy (induration in mm) with 100 T.U. and 1000 T.U. PPD

Exp. Group	Guinea pig No	Weeks after vaccination			
		4	6	8	10
I	1	0/6 *	4/17	12/20	10/22 NB**
	2	0/8	0/12	6/11	5/14
	3	0/0	0/4	0/2	0/10
	15	11/16	8/14	7/12	7/13
	16	2/9	14/18	7/12	15/16
II	4	0/0	0/7	0/10	10/22 NB
	5	0/0	0/8	0/13	18/25 N
	6	7/9	10/16	8/21	6/20
	7	8/15	5/15	7/17	5/15
III	8	0/3	died	—	—
	9	2/10	died	—	—
	10	3/6	8/16	7/13	7/12
	17	0/6	0/12	0/15	0/12
	18	6/8	10/15	6/13	9/13
IV	11	0/0	0/0	0/0	6/16
	12	0/0	0/0	0/0	died
	13	0/0	0/0	0/0	died
	14	0/3	0/0	2/9	0/15
	19	0/0	0/0	7/10	7/15
	20	0/0	0/0	4/11	died

* : Size in mm with 100 TU PPD/Size in mm with 1,000 TU PPD. ** : N : Necrosis, B : Bubbles.

頸部リンパ腺の腫脹がほとんど見られず、一部、多少の腫脹や、乾酪化を認めたものもあるが多くは1側性で、それらの変化はいずれも軽度かつ限局性であった。

脾における変化はこれに次で顕著で、対照群の動物ではすべて脾腫をきたしかつ1~7個の結核結節を形成し

ていたが、免疫群においては、多少の脾の腫大はあつても、結節形成は肉眼的には見られなかつた。

腸間膜リンパ腺の変化としては、菌の最初の侵入部位であるにもかかわらず、乾酪化および高度の腫脹は見られず、免疫群と対照群との間に差異を認め難かつた。

3. 生存期間：筋肉内接種免疫群の動物中2疋が有毒菌攻撃前に發育不良で死亡した以外には、免疫群の動物12疋はいずれも実験終了時まで生存し、屠殺された。これに対して、対照群の6疋中3疋は、9~10週の間に斃死したが、剖検の結果、頸部リンパ腺、脾および気管・気管支リンパ腺に、明らかな結核性病変を有していた。

4. 臓器内攻撃菌の還元培養：臓器内における攻撃菌の消長は、臓器の1% NaOH 乳剤1mgの定量培養によつて検討された。免疫に用いたBCGの体内残存を考慮して、100 γ /ml SM含有 Löwenstein 培地と、SMを含まない同培地との2種を用いて分離培養を行った。BCG菌液中の100 γ SM耐性菌の率から考えて、SMを含まない培地上の集落はBCGとH₃₇Rv-R-SMの合計、100 γ /ml SM含有培地上の集落はほとんどすべてがH₃₇Rv-R-SMの生菌単位数をそれぞれ表わすと見做しうるであろう。

剖検所見および定量培養成績は、一括して表2に掲げた。

前報告¹⁾において述べたBCG 50mg 経口投与の場合には、腸間膜リンパ腺では4~8週に、また頸部リンパ腺では8~10週に、それぞれやや多くの生菌を認めたが、これに較べると、本実験における対照群では、リンパ腺内において菌の増殖が相当強いようである。2種の分離培地上の集落数からみて、表に示された集落数はほとんど

表2 Autopsy findings and number of viable units recovered from spleen and lymphnodes

Exp. Group	Guinea pig No	Body weight at (g)		Spleen		Cervical glands		Mesenteric glands	
		birth	end of 10 weeks	Weight (mg)	Colonies per mg	Weight (mg)	Colonies per mg	Weight (mg)	Colonies per mg
I	1	80	375	330	0/0**	+ 240	260/250**	490	125/180**
	2	60	250	220	0/0	70	0/6	260	0/2
	3	110	270	210	0/0	90	0/12	270	10/14
	15	80	310	340	0/0	100	1/6	330	19/20
	16	80	390	510	0/1	160	22/22	470	290/230
II	4	40	215	480	0/1	+ 540	345/425	360	1/4
	5	60	250	510	1/1	+ 360	645/730	350	1/0
	6	100	250	160	0/0	170	0/2	220	35/33
	7	110	260	200	0/0	100	0/1	330	205/230
III	10	50	250	320	0/0	170	655/645	340	17/25
	17	90	340	600	0/1	240	520/470	550	53/32
	18	100	350	540	0/1	140	0/4	570	1/1
IV	12	60	270	* 480	5/4	+ 1830	330/445	370	85/110
	14	60	320	* 860	42/63	+ 960	1000/2050	510	210/180
	19	90	300	* 500	200/250	+ 1250	860/910	490	365/360

Note + : Caseation * : Tubercles ** : Number of colonies on SM added Med./Number of colonies on SM free Med.

H₃₇Rv-R-SMによつて代表されると考えられるが、一般に免疫群では対照群に比して攻撃に用いた有毒菌の増殖を幾分押えているように見える。特に脾からの生菌数が免疫群においては極めて少なく、対照群においてのみ相当多い点を見ると、免疫群においては、侵入門戸としての淋巴腺内においてはかなりの程度に菌の増殖を許しているものもあるが、さらに進んで脾にまで波及することは防止しているように見える。その関係は、経口接種の2群および筋肉内接種群の間でほとんど差異がない。動物数が少ないこととおおよその推察に止まるが、淋巴腺や脾における腫大、肉眼的結節形成、乾酪化などの所見と、臓器1mg宛りの生菌数の多少とからみて、免疫群では、有毒菌の増殖ならびに臓器内侵入をある程度は抑制していると思われることができるように思う。

総括ならびに考察

新生児モルモットにBCGを50mg経口接種したところ、弱いツベルクリン・アレルギーしか得られなかつた。また50mgを4回計200mg経口接種しても、10mgを筋肉内に接種しても、同様に、余り強いアレルギー状態は得られなかつた。その原因は、一つには幼若モルモットであるという体質的な条件に求めらるべきものかも知れない。

しかし、5mgという大量の有毒結核菌経口感染に対しては、その感染をある程度局部に限局して、他の臓器への伝播を阻止している傾向が見られる。対照群の一部が感染後剖検前に斃死したことは必ずしも高度の進行性結核性病変にのみ基くとはいえないが、これらの動物をも含めて、対照群すべての動物において淋巴腺の腫脹や乾酪化が著明であり、しかも脾における肉眼的病変も強く、定量培養による有毒結核菌数も明らかに多かつたこ

とをみれば、免疫群においては、結核性病変を多くは直達部淋巴腺に局限し、脾への蔓延を防ぎえていると考えることが可能であろう。しかも免疫群の淋巴腺においては、対照群に比して腫脹の程度も乾酪化の傾向も明らかに少なく、かつ定量培養による有毒結核菌数も、対照群におけるよりやや少ない傾向があつた。

以上の成績から、新生児モルモットに対するBCG経口接種は、有毒結核菌の経口感染に対して、不十分ながら、ある程度の免疫効果を与えうるものと思われる。

結 論

新生児モルモットにBCGを50mgないし200mg経口接種し、接種後6週目に有毒人型結核菌H₃₇Rvの100γ Streptomycin 耐性菌5mgをもつて経口感染を行つた。

感染後4週目の剖検所見ならびに臓器内攻撃菌の生菌単位数からみて、BCG経口接種は幼若モルモットにある程度の免疫効果を与えうると考えられる。

摺筆に臨み、御校閲下さつた日本国立予防衛生研究所柳沢部長、室橋博士に深謝する。

文 献

- 1) S.T. Hsu: Kekkaku, Vol. 31, No. 3, P. 155.
- 2) S.T. Hsu: Kekkaku, Vol. 30, No. 12, P. 730.
- 3) J.C. Tao, H.T. Lin, S.T. Hsu: To be published in Chinese Medical Journal.
- 4) Oral Vaccines, Thompson and Thompson, 1948, William and Wilkins Co.
- 5) Kekkaku: Vol. 30, 1955, P. 114.
- 6) Toyoho Murohashi: Acta Paediatrica Japonica, Vol. LII, Fasc. 1. 20. 3, 1948.