

# SM 耐性結核菌による再感染の実験的研究

堀本清治郎

大阪大学医学部第三内科学教室 (主任 堂野前維摩郷教授)

受付昭和31年8月24日

## 緒言

結核の免疫は果して如何なる程度に外因性再感染を阻止しうるかについて、すでに内外の研究者により多数の再感染実験が行われているが、しかしこれらの実験においては発生した病巣が初感染菌によるか、または再感染菌によるかを確実に知りえないことが共通の欠点である。私は初感染にSM感受性菌を、再感染にSM耐性菌を用いて発生した病巣がいずれの菌に由来するかを確実に知りうることに成功したのでこの方法により結核免疫につき再検討した。

以下要点を報告する。

## 実験方法

実験動物は天竺鼠を使用した。初感染にSM感受性毒力結核菌H<sub>2</sub>株 1/100mgを大腿部皮下に接種、「ツ」反応陽転を確認後、SM耐性毒力結核菌吹田株の種々なる

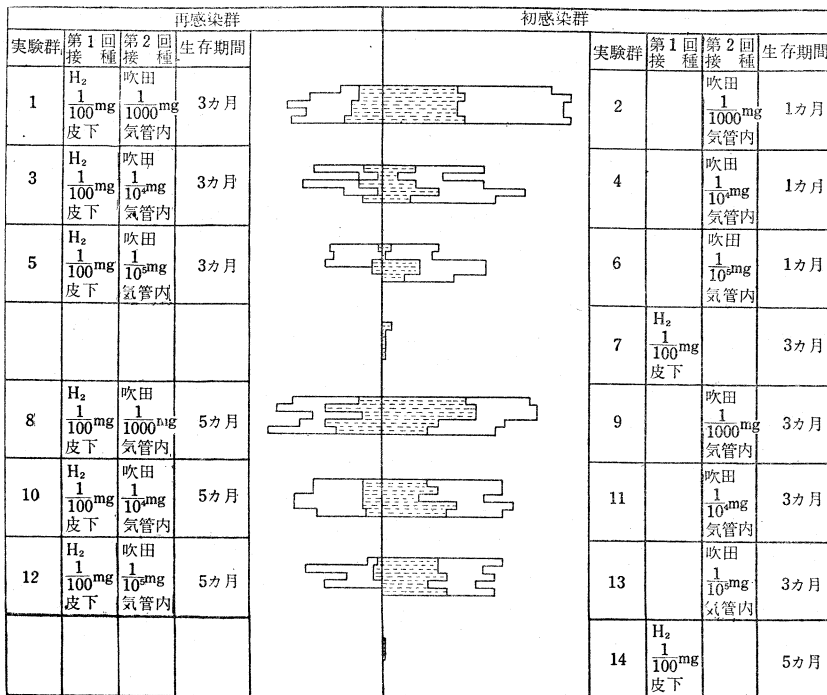
菌量を気管内、皮下、静脈内に再接種した(免疫群)。なお吹田株とはSM 1000γ/cc 耐性結核患者より分離した人型毒力株で、使用前SM 100γ/cc 含有液体培地、および固型培地にそれぞれ3代継代したもので、その任意の100集落につきSM耐性を検査したところ全部SM 100γ/cc 耐性であつた。かくて1ヵ月、3ヵ月後剖検してリンパ腺、臓器の結核病変を精査するとともに、その一定量の培養を行い、SM耐性の有無を検査した。一方これが対照として初感染を行わずして吹田株の同量を同様な方法で感染した動物を非免疫群と称し、同様に検査を行い両者を比較した。

## 実験成績

### I 気管内接種による再感染実験

SM感受性菌H<sub>2</sub>株により初感染した2ヵ月後SM耐性菌吹田株を1/1000, 1/10<sup>4</sup>, 1/10<sup>5</sup>mgを気管内に再感染した。1群5匹中3匹の各臓器の一定量と、個々の肺

図1 肉眼的剖検所見のヒストグラム



□ 内臓の所見  
 ■ 肺門淋巴線の所見

結節を硫酸法により岡・片倉培地に培養し、発生した集落をSM 100 $\gamma$ /cc含有液体培地にてSM耐性の有無を検査した。

1) 肉眼的剖検所見

肉眼的病変をヒストグラムで表示すると図1の如くである。

免疫群は非免疫群に比して肺門リン巴腺および内臓の病変は軽度であり、かつ非免疫群においては接種菌量の増加、生存日数の延長により病変は増加するが、免疫群は非免疫群ほど増加しない。

2) 個々の肺結節より検出した集落数

個々の肺結節より検出した集落数をヒストグラムで表

図2 個々の肺結節より検出した集落数の平均値のヒストグラム

再感染群				初感染群									
実験群	第1回接種	第2回接種	初接種より屠殺迄の期間	50	100	150	200	250	300	実験群	第1回接種	第2回接種	初接種より屠殺迄の期間
1	H <sub>2</sub> 1/100mg 皮下	吹田 1/1000mg 気管内	3ヵ月	[Histogram]						2		吹田 1/1000mg 気管内	1ヵ月
3	H <sub>2</sub> 1/100mg 皮下	吹田 1/10 <sup>3</sup> mg 気管内	3ヵ月	[Histogram]						4		吹田 1/10 <sup>3</sup> mg 気管内	1ヵ月
5	H <sub>2</sub> 1/100mg 皮下	吹田 1/10 <sup>3</sup> mg 気管内	3ヵ月	[Histogram]						6		吹田 1/10 <sup>3</sup> mg 気管内	1ヵ月
				[Histogram]						7	H <sub>2</sub> 1/100mg 皮下		3ヵ月
8	H <sub>2</sub> 1/100mg 皮下	吹田 1/1000mg 気管内	5ヵ月	[Histogram]						9		吹田 1/1000mg 気管内	3ヵ月
10	H <sub>2</sub> 1/100mg 皮下	吹田 1/10 <sup>3</sup> mg 気管内	5ヵ月	[Histogram]						11		吹田 1/10 <sup>3</sup> mg 気管内	3ヵ月
12	H <sub>2</sub> 1/100mg 皮下	吹田 1/10 <sup>3</sup> mg 気管内	5ヵ月	[Histogram]						13		吹田 1/10 <sup>3</sup> mg 気管内	3ヵ月
				[Histogram]						14	H <sub>2</sub> 1/100mg 皮下		5ヵ月

表1 肺の結核病巣の区別

再 感 染 群						初 感 染 群							
実験群	第1回接種	第2回接種	被検病巣	集落陽性数		集落陰性数	実験群	第1回接種	第2回接種	被検病巣	集落陽性数		集落陰性数
				SM-R	SM-S						SM-R	SM-S	
1	H <sub>2</sub> 1/100mg	吹田 1/1000mg	30	28	1	1	2		吹田 1/1000mg	30	30	0	0
3	同上	吹田 1/10 <sup>3</sup> mg	4	4	0	0	4		吹田 1/10 <sup>3</sup> mg	29	28	0	1
5	同上	吹田 1/10 <sup>3</sup> mg	4	2	0	2	6		吹田 1/10 <sup>3</sup> mg	4	4	0	0
							7	H <sub>2</sub> 1/100mg					
8	同上	吹田 1/1000mg	25	23	0	2	9		吹田 1/1000mg	26	26	0	0
10	同上	吹田 1/10 <sup>3</sup> mg	17	17	0	0	11		吹田 1/10 <sup>3</sup> mg	27	27	0	0
12	同上	吹田 1/10 <sup>3</sup> mg	11	6	0	5	13		吹田 1/10 <sup>3</sup> mg	24	19	0	5
							14	H <sub>2</sub> 1/100mg					

すと図2の如くである。

再感染群は初感染群に比して著明に集落数が少数であるのは興味あることである。なお13群において結節が小さかったため検出集落数が少なかったと考える。

3) 肺の結核病巣は初感染巣か、再感染巣かの区別  
肺の結節より検出した集落のSM耐性の有無より病巣の区別を行つた成績は表1の如くである。

すなわち当実験条件では第1群において初感染菌によると思われる病巣が1コ証明されたのみで他の病巣は全部SM耐性菌による病巣であつた。

4) 各臓器へのSM耐性菌の分布

肺以外の各臓器より検出した集落につきSM耐性検査を行い体内分布を検索した。膝門リン腺は再感染群ではほとんど初感染菌のみ検出した。僅かに第1群、第3群の

1匹のみ再感染菌の侵入を受けていた。初感染群では約半数の動物にSM耐性菌を証明した。肺門リン腺は初感染群、再感染群ともにほとんどSM耐性菌を検出した。しかし両者の侵入を受けている動物も認めた。脾、肝においては再感染群の方がSM耐性菌の侵入を受けている動物は少なかった。腎へのSM耐性菌の伝播は全動物に認められなかつた。

小括

1. 肺門リン腺および内臓の肉眼的変化は再感染群は初感染群より軽度である。初感染群では生存期間の延長とともに病変の進行が見られるが再感染群では進行は緩慢である。

2. 肉眼的に大きさ、乾酪化の同程度の個々の肺結節より検出したSM耐性菌集落数は再感染群においては初感染群に比して著明に少数である。

3. 再感染群における肺病巣は私の実験においては初感染巣と認められるものを1コ認めたのみで他の病巣は全部再感染巣であつた。

4. 各臓器へのSM耐性菌の伝播は再感染群は初感染群に比して明らかに阻止されている。

II 皮下接種による再感染実験

初感染 1.5ヵ月後吹田株を 1/100, 1/1000mgを大腿部皮下に再接種した。1群5匹中3匹のリン腺、臓器の一定量をSM 100γ/cc含有および非含有小川培地に培養し、SM耐性の有無を検査した。

1) 肉眼的病変は再感染群は初感染群に比して明らかに軽度である。

2) 肺門リン腺より検出したSM耐性菌集落数

前記の方法により検出した集落数をヒストグラムで表すと図3の如くである。

再感染群からはSM耐性菌集落を検出できなかったが、初感染群よりは各群より相当多数の集落を検出した。生存期間が延長するとともに初感染群では検出集落数は増加する。

3) 肝門リン腺より検出したSM耐性菌集落数

肝門リン腺より検出したSM耐性菌集落数のヒストグラムは図4の如くである。

再感染群においては第8群の2匹より数個の集落を検出したのみである

図3 肺門リン腺より検出した再感染菌集落数のヒストグラム

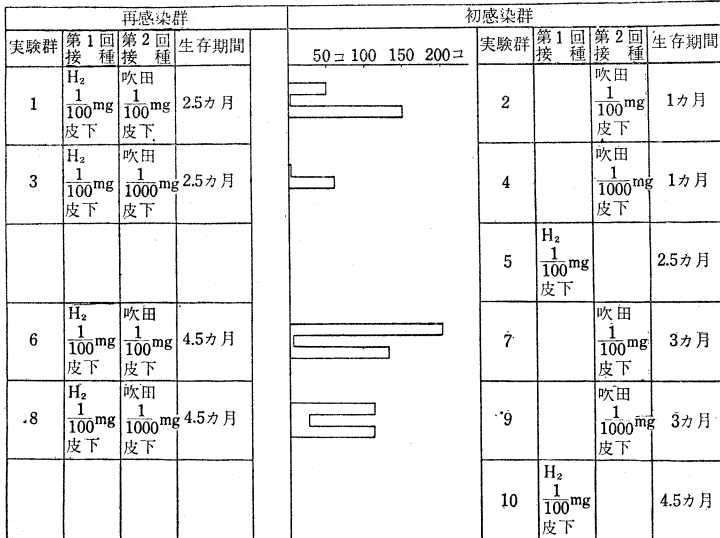
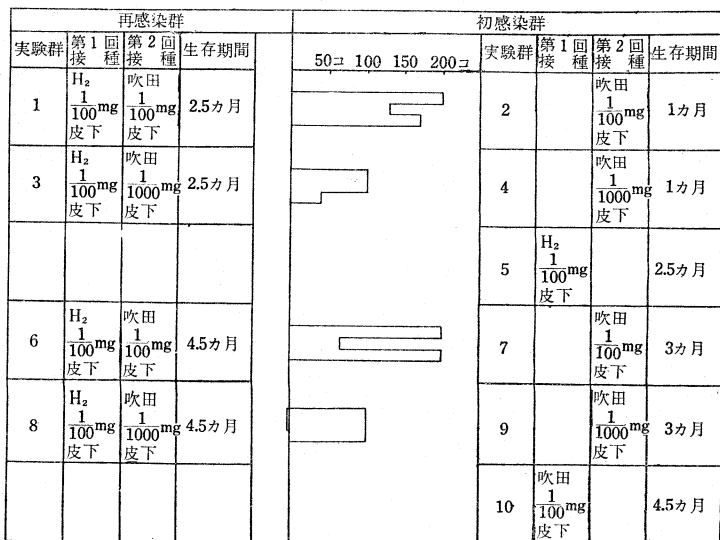


図4 肝門リン腺より検出した再感染菌集落数のヒストグラム



が、初感染群よりは多数検出した。

4) 脾より検出したSM耐性菌集落数

脾より検出したSM耐性菌集落数は再感染群よりは検出できなかったが、一方初感染群よりは多数検出し、生存期間の延長によつて増加し、接種菌量による差は認められる。

5) 肝、腎、肺、骨髓より検出したSM耐性菌集落数  
初感染群においても僅かであつたため再感染群との間に差は認められなかつた。

6) 各臓器へのSM耐性菌の分布

以上の成績よりSM耐性菌の体内伝播は再感染群ではほとんど阻止されているのを認めた。

小 括

1. 再感染を皮下に行つた場合は肉眼的変化は再感染群は初感染群に比して軽度である。

2. 肺門淋巴腺、肝門淋巴腺、脾より検出したSM耐性菌集落数は再感染群ではほとんど零であるが初感染群では相当多数であつた。しかし他の臓器においては初感染群でもごく少数であつた。

3. SM耐性菌の体内伝播は再感染群ではほとんど阻止されているに比して初感染群では相当認められ、生存期間の延長とともに高度となる。

III 静脈内接種による再感染実験

初感染1.5ヵ月後吹田株 1/1000, 1/10<sup>4</sup>mg を静脈内に再接種し、以下前実験と同様に検査した。

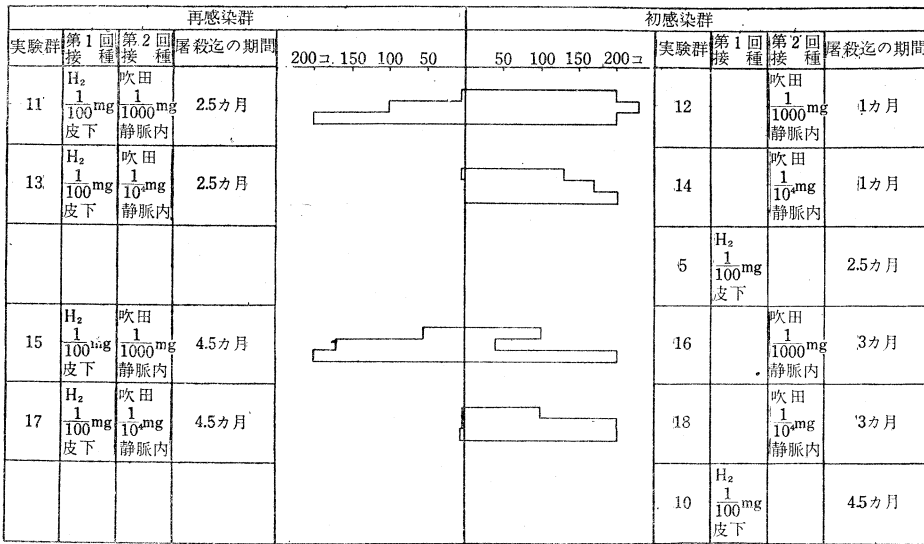
1) 肉眼的剖検所見は再感染群は初感染群に比して病変は軽度である。再感染群では接種菌量が1/1000mgであると生存期間の延長とともに病変が増加するが、1/10<sup>4</sup>mg 接種では増加は見られない。一方初感染群では接種菌量に関係なく病変は増加する。

2) 肺門、肝門淋巴腺より検出したSM耐性菌集落数  
再感染群は初感染群に比して著明に集落数は少ない。再感染群は生存期間が延長するに従つて検出集落数も増加するが、初感染群では短期間でも検出集落数は多数であり、長期実験群との間に差は認められない。

3) 脾より検出したSM耐性菌集落数

脾より検出したSM耐性菌集落数のヒストグラムは図5の如くである。

図5 脾より検出したSM耐性菌集落数のヒストグラム



再感染群は初感染群に比較すると著明な差が認められ少数である。しかし接種菌量が多量で生存期間が長期になると集落数は増加し、初感染群とほとんど差は認められなくなる。

4) 肝より検出したSM耐性菌集落数も脾における成績とほとんど同様である。

5) 腎、肺より検出したSM耐性菌集落数

初感染群より検出した集落数も少数であるため、再感染群との間に差は認め難い。

6) 骨髓より検出したSM耐性菌集落数

骨髓より検出したSM耐性菌集落数のヒストグラムは

図6の如くである。

接種菌量が多量であると再感染群は初感染群に比して著明に少ない。しかし少量においては両者ともに少なく、その差は認め難い。

7) 各臓器へのSM耐性菌の分布

再感染群においては接種菌量が1/1000mgの場合はSM耐性菌の伝播は初感染群と差は認め難いが、1/10<sup>4</sup>mgの実験群は1ヵ月接種群においてのみやや阻止されているのを認めた。

小 括

1. 再感染群の肉眼的変化は初感染群に比して軽度で

図6 骨髓より検出したSM耐性菌集落数のヒストグラム

再感染群				初感染群			
実験群	第1回接種	第2回接種	初感染より屠殺迄の期間	実験群	第1回接種	第2回接種	初感染より屠殺迄の期間
15	H <sub>2</sub> 1/100mg 皮下	吹田 1/1000mg 静脈内	4.5ヵ月	16		吹田 1/1000mg 静脈内	3ヵ月
17	H <sub>2</sub> 1/100mg 皮下	吹田 1/10mg 静脈内	4.5ヵ月	18		吹田 1/10mg 静脈内	3ヵ月
				10	H <sub>2</sub> 1/100mg 皮下		4.5ヵ月

ある。

2. 肺門、肝門リンパ腺より検出したSM耐性菌集落数は再感染群は初感染群に比して少ない。

3. 脾、肝より検出したSM耐性菌集落数は再感染群は初感染群より少ない。しかし多量菌接種実験群では日数の増加とともに集落数も増加し、両者の間に差はほとんど認められない。

4. 腎、肺より検出したSM耐性菌集落数は初感染群においても少数であるため、両者の間に差は認められなかった。

5. 骨髓においても再感染群より検出したSM耐性菌集落数は初感染群のそれより少数である。

6. SM耐性菌の体内伝播は吹田株 1/10<sup>4</sup>mg 接種群

においては再感染群はやや阻止される。しかし量的には著明に阻止されている。

7. これらの成績は吹田株を皮下に接種した場合に比し各臓器への伝播の阻止は著明でなかった。

IV 微量菌の頻回気管内接種による再感染実験

以上の諸実験は再感染菌量が多く人間における再感染と様相が異なるため、私は人間における感染条件に近づけて、次に微量菌による頻回接種再感染実験を行つた。すなわち初感染後吹田株 1/10<sup>6</sup>mg (1コ〜3コ生菌単位)を一週互に1回、3回、5回、気管内より再感染した。1群5匹の動物を前実験と同様に検査した。

1. 肉眼的剖検所見のヒストグラムは図7の如くである。

図7 頻回微量接種動物の剖検所見のヒストグラム

再感染群				初感染群							
実験群	第1回接種	第2回接種	初感染より屠殺迄の期間	40コ	20	40	60コ	実験群	第1回接種	第2回接種	初感染より屠殺迄の期間
1	H <sub>2</sub> 1/100mg 皮下	吹田 1/10 <sup>6</sup> mg 1回 気管内	4.5ヵ月					2		吹田 1/10 <sup>6</sup> mg 1回 気管内	3ヵ月
3	H <sub>2</sub> 1/100mg 皮下	吹田 1/10 <sup>6</sup> mg 3回 気管内	4.5ヵ月					4		吹田 1/10 <sup>6</sup> mg 3回 気管内	3ヵ月
5	H <sub>2</sub> 1/100mg 皮下	吹田 1/10 <sup>6</sup> mg 5回 気管内	4.5ヵ月					6		吹田 1/10 <sup>6</sup> mg 5回 気管内	3ヵ月
								7	H <sub>2</sub> 1/100mg 皮下		4.5ヵ月

すなわち1回接種群においては再感染群と初感染群とともに病変は軽度で明らかな差は認められない。しかし3回接種群においては明らかに差は認められるが、5回接種群では再感染群でも病変は高度で初感染群との間に差は認め難い。また再感染群では5回接種で病変は増加するが、初感染群では3回接種でも病変は高度となる。

2. 脾より検出したSM耐性菌集落数

脾より検出したSM耐性菌集落数をヒストグラムで表示すると図8の如くである。

再感染群は初感染群に比して検出集落数は著明に少ない。

3. 肝より検出したSM耐性菌集落数も脾における成績と同様な傾向を認めた。

4. 肺より検出したSM耐性菌集落数

肺より検出したSM耐性菌集落数のヒストグラムは図9の如くである。

初感染群は再感染群に比して著明に多い。再感染群においては1回、3回接種群ではともに少数で差はない

図 8 脾より検出したSM耐性菌集落数のヒストグラム

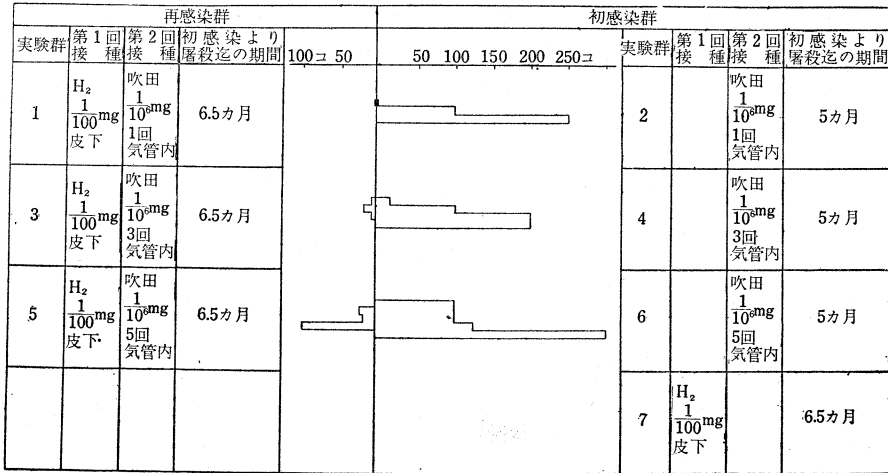
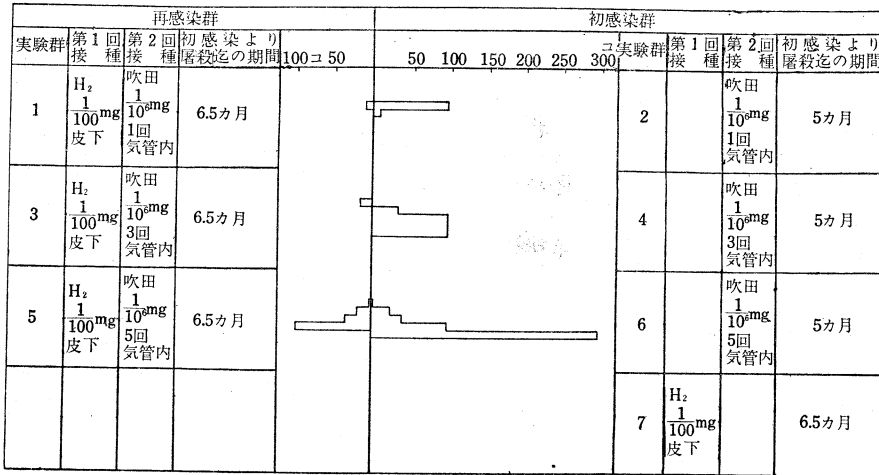


図 9 肺より検出したSM耐性菌集落数のヒストグラム



が、5回接種群ではやや多数の集落を検出した。初感染群においては1回接種群では少数であるが、3回、5回接種群では多数となる。

5. 個々の肺結節より検出したSM耐性菌集落数は、第1実験におけると同様に再感染群は初感染群に比して少数である。

6. 各臓器へのSM耐性菌の分布

再感染群では1回、3回接種群では初感染群に比して体内伝播は阻止されている。5回接種群では、肺門、肺、脾においては余り差はないが、肝、腎においてはやはり伝播は阻止されているのを認めた。

7. 肺病巣形成頻度を動物数で比較すると再感染群と初感染群の比は1回接種では1:2、3回接種では3:5であり、また形成された病巣数も遥かに少ない。しかし5回接種の場合は4:5となり両群間の差異は不著明となる。

小 括

1. 肉眼的剖検所見は再感染群は初感染群に比較して

病変は少ない。しかし接種回数が少ないとその差は余り認められない。肺における病巣形成頻度も再感染群は少ない。しかし接種回数が多くなるとほとんど全動物に病巣形成が見られ両者の間に差は見られない。

2. 各臓器より検出したSM耐性菌集落数は大体肉眼的病変と平行し、再感染群は初感染群に比して少ない。

3. SM耐性菌の各臓器への伝播は再感染群は初感染群に比してやや阻止されている。

総括および考案

1. 私の気管内再感染実験については再感染菌量が1/1000~1/10<sup>5</sup>mgの場合に明らかに免疫現象が認められ、再感染菌による病巣は著しく少ない。しかし例え1/10<sup>5</sup>mg接種にても免疫により再感染を阻止することはできないが、再感染後期間を経るとともに免疫群の病巣はほとんど増大しないが、非免疫群においては増大する。Römer<sup>1)</sup>、<sup>2)</sup>、Hamburger<sup>3)</sup>、Lewandsky<sup>4)</sup>は皮下または吸入法により、Lange<sup>5)</sup>、<sup>7)</sup>は静脈内接種法により再

感染実験を行い、免疫動物においては再感染による病変は軽度であり、かつ乾酪化の程度の少ないことを認めている。またLange<sup>6)</sup>も羊では気管内、天竺鼠では静脈内に強毒菌を反覆接種して免疫動物には病変の少ないことを認めている。わが国でも佐多<sup>8)</sup>は皮下接種法により、清野<sup>9)</sup>は気管内に1/1000~1/10<sup>6</sup>mgの結核菌を接種し、弘重<sup>10)</sup>は組織内結核菌をもつて再感染実験を行い、田中<sup>11)</sup>は異系菌の反覆注射によりいずれも再感染による病変は軽度であり、これは恐らく免疫の存在によるものであることを認められている。

2. 私は再感染菌によつて生じた肺の結節より検出した菌数は初感染菌に比して著明に少ないことを証明した。これは免疫動物では肺に到達した菌により結節を作ることが或る程度阻止されるとともに、一旦作つた病巣中でも菌の増殖が阻止されることを示す事実である。

3. 免疫動物においては再感染菌集落の各臓器よりの検出数も少ない。この場合結核菌の体内伝播阻止のためであろうと考えられる。すでにLurie<sup>12)</sup>も各臓器より検出集落数を比較して、免疫動物より検出した集落数が少なく、また菌の増加も少ないことを発表し、細沼<sup>13)</sup>も免疫群の脾より検出した集落数は非免疫群のそれより少なく、増加も少ないことを認め、中谷<sup>14)</sup>も免疫動物は軽度の散布遅延を認めているが、これらはその毒力および生存日数によつて病巣を区別したもので未だ充分でなかつたが、私はSM耐性菌を用いて証明した。

4. 皮下および静脈内再感染実験においても同様に免疫群の病変は非免疫群より軽度であるが、大量の静脈内接種を行い、長期間を経た場合は脾、肝においては免疫はほとんど認められない。

5. 以上は比較的多量の結核菌接種による実験であるが、人体の自然感染は通常極めて微量の結核菌によつて起るとされているに鑑み、私は微量菌(1コ~3コ生菌単位)による気道内頻回再感染実験を試みた。その結果1回の微量感染による肺病巣の形成頻度は初感染に比して、1:2, 3回感染では3:5であり、また形成された肺病巣数および結核菌検出集落数も遙かに少ない。しかるに5回感染の場合における肺病巣形成の頻度は4:5であり、ほぼ同様となる。すなわち微量気道内再感染による肺病巣形成は免疫の存在により或る程度阻止されるが、その阻止は決して完全でなく、頻回反覆感染が起れば丁度大量菌接種の場合と同様に、もはや免疫の存在は明らかに確認し難い。

以上の実験結果を直ちに人の再感染の様相に当てはめることは慎重を要すると思う。しかし人体においても再感染による病巣形成が起り難いことは事実であるとしてもこれを完全に阻止しえず、ことに短期間の反覆感染の危険性を示唆するものといえよう。最近SM耐性菌による確実なる再感染例がEdwine<sup>15)</sup>, Schamaskin<sup>16)</sup>, Br-

ennen<sup>17)</sup>, Arany<sup>18)</sup>, Tinne<sup>19)</sup>により10数例も報告されており、一方Heimbeck<sup>20)</sup>は臨床的統計学的観察により結核再感染の重要性を強調している。

私の実験的結果は上記の臨床的観察に一つの実験的根拠を与えたものであろう。

## 結 論

1. 私は初感染にはSM感受性結核菌を、再感染にはSM耐性結核菌を使用することにより、再感染菌による病巣形成および体内伝播を確実に追及しうる方法を考案した。このような方法を用いて天竺鼠につき種々なる接種菌量および接種方法による再感染病巣の形成および再感染菌の体内分布を検索し、これを初感染の場合に対比し次の結果を得た。

2. 再感染による病巣の形成は初感染の場合に比し遙かに軽度であり、また各病巣内および各臓器内の結核菌数も明らかに少なく、かつ結核菌の体内伝播も著しく抑制される。また形成された病巣の進展も極めて緩慢である。

3. 再感染動物における病巣形成の抑制の程度は、接種方法によつても差異があるが、ことに接種菌量に大いに関係がある。すなわち少量ないし中等量の菌接種の場合には著明に現われるが、大量菌接種の場合には、初感染と再感染の間に病巣がはなはだしい差異を認め難きに至る。

4. 極めて微量の結核菌(1コ~3コ生菌単位)を一定間隔をもつて反覆再感染実験を行つた結果によると、1~3回感染においては肺の病巣の形成の頻度は初感染の場合に比し明らかに低いが、5回反覆感染に至れば初感染の場合と同様に全部に肺病巣の形成を認めた。すなわち微量菌の反覆感染は恰も大量菌の1回感染に類似の関係を示した。

5. 以上の研究成績は結核免疫の存在とその限界を一新方法により再確認せるものである。

摺筆に当り御指導、御鞭撻をいただいた堂野前教授ならびに河盛助教授に対し心から感謝の意を表する。

## 主要文献

- 1) P. Römer : Beitr. Klin. Tbk., 13: 1, 1909.
- 2) P. Römer : Beitr. Klin. Tbk., 22: 256, 1912.
- 3) F. Hamburger : Beitr. Klin. Tbk., 12: 259, 1909.
- 4) Lewandsky : Tbk. d. Hant, 53: 5, 1916.
- 5) B. Lange : Z. f. Tbk., 61: 4, 1931.
- 6) B. Lange : Z. f. Tbk., 77: 4, 1937.
- 7) B. Lange : Z. f. Hyg., 110: 209, 1929.
- 8) 佐多愛彦 : 結核, 3: 529, 大13.
- 9) 清野 博 : 結核, 4: 546, 大15.

- 10) 弘重寿輔：結核，3：305，大14.
- 11) 田中 実：結核，3：500，大14.
- 12) M.B. Lurie：J. Exp. Med., 11：435，1925.
- 13) 細沼：結核，23：36，昭23.
- 14) 中谷繁一：結核，13：642，昭10.
- 15) A. Edwine：J.A.M.A., 140：1274，1949.
- 16) A. Schamaskin：Dis. Chest, 15：303，1949.
- 17) A.J. Brennen：J.A.M.A., 140：1975，1949.
- 18) L.S. Arany：Dis. Chest, 22：313，1952.
- 19) J.E. Tinne：Lancet, 30：901，1950.
- 20) J. Heimbeck：Acta Tub. Scand., Suppl., 21：36，1949.