

モルモットにおけるツベルクリン反応

第4報 各菌株感作後40週まで観察した動物 における各時期による反応の推移

三 浦 馨・浅 見 望

国立予防衛生研究所結核部 (部長 柳沢 謙)

受付 昭和31年9月15日

I 緒 言

モルモットに結核菌を感染させた場合、ツベルクリン・アレルギーの発現時期および持続期間は、接種菌の菌力、菌量、菌液の調製法、接種方法および動物の感受性、栄養状態等の外に使用ツベルクリンの種類、濃度、注射部位、判定方法、判定時間等によつて異なることは多くの研究者によつて明白のことである。しかし、わが国におけるこれらの業績を通覧するに、感染菌の毒力が一定でなく、かつ、動物の飼養管理の失宜等のために、一般に、ツベルクリン・アレルギーが弱いので、使用ツベルクリンも濃厚液（5倍または10倍）が用いられていた。また、観察期間も種々の事情のため比較的短かいものが多かった（佐藤¹⁾、清水²⁾、菅原³⁾ら）。しかるに、Freund & Gottschall⁴⁾らの死菌流動パラフィン浮游液を用いて感作を行うとはなはだ強いアレルギーが付与されるので、現在、この動物によつてツベルクリンの力価検定を行つている。しかし、このようにして感作した動物のツベルクリン・アレルギーの発現程度および持続期間等についてはほとんど検討が行われていなかったもので、今回、これが実験を行うとともに無毒、弱毒および強毒菌等の生菌を感作させた場合におけるツベルクリン反応の推移をも合せて実験した。なお、実験当初は少なくとも1か年間の観察を続ける予定であつたが、途中において動物舎の移転のため止むなく40週において実験を中止したので、それまでの成績の概要を報告する。

表1 実験動物の群別

群別	感 作 方 法			使用頭数		平均体重	
	菌株	生死別	接種量	0 週	40週	0 週	40週
I	18-b	生	1.0 ^{mg}	10	8	498 ^g	998 ^g
II	BCG	生	1.0	15	11	481	1003
III	H ₂	生	0.0001	20	8	454	800
IV	H ₂	生	0.001	20	9	451	787
V	H ₂	生	1.0	20	12	485	826
VI	青山B	死	6.0	15	11	400	856
VII	無処置			12	8	404	890

注: 第VI群は流動パラフィン浮游液として筋肉内接種した
その他の群、滅菌蒸溜水浮游液として皮下接種した

II 実験方法

1. 使用動物

はじめ体重400~450gの白色雄の正常モルモット102匹を表1の如く区別して、各群5匹ずつを一箱に飼育した。ところが種々の事情で途中斃死し、40週に至り67匹となつた。以下述べる成績はこの67匹についてである。

2. 感作方法

a) 使用菌株と接種菌量: 無毒菌としてはBCG株、弱毒菌としては18-b⁵⁾株、強毒菌としてはH₂株等の生菌を用い、死菌には青山B株を用いた。いずれもソートン培地培養の10~14日の菌体を生菌の場合は常法にしたがつて滅菌蒸溜水をもつて次の菌液を作つた。すなわち、0.5cc中に18-b株、BCG株は1mg、H₂株は1, 0.01, 0.0001mgを含むようにした。なお、生菌単位は18-b株10×10⁶、BCG株は23×10⁶、H₂株は17×10⁶であつた。また、死菌の場合は、青山B株を100°C 1時間殺菌したのち、流動パラフィンをもつて1cc中10mgの菌浮游液とした。

b) 接種方法: 生菌の場合は上記の菌量を含んだ浮游液0.5ccを動物の右下腹部に皮下接種した。死菌のものは0.3ccずつを左右の後脚の筋肉内に接種した。(実量6.0mg)

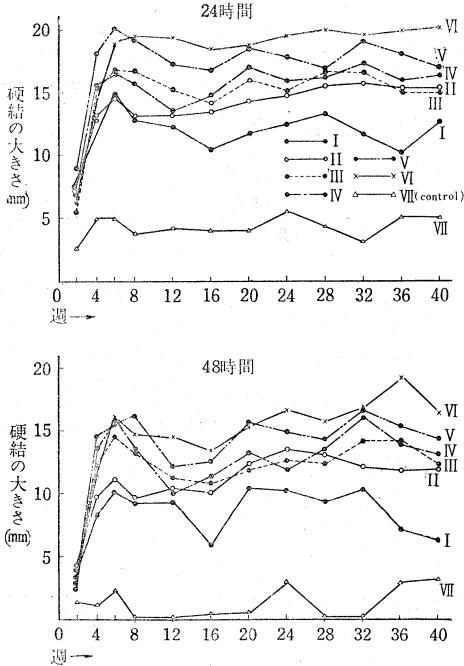
3. ツベルクリン皮内反応検査法

使用ツベルクリンは人型結核菌青山B株のソートン培地培養の原液を硼砂硼酸緩衝液をもつて1,000倍と10,000倍とに稀釈したものを用いた。この外、対照液として上記の緩衝液を同時に用いた。注射時期は接種後2~8週までは隔週毎に、その後40週までは4週毎に実施した。注射方法は上記3種類のツベルクリン0.1ccずつを1側の背腹部に皮内注射し、注射後24時間および48時間における発赤および硬結の大きさの縦横径を計測した。なお、頻回注射による誤差を少なくするため、注射の都度部位は左右を交互に交代した。

4. その他

体重は感作後8週までは毎週、その後は隔週毎に測定した。なお、接種局所および所属淋巴腺等の変化は体重測定の際同時に調べた。

図1 OT 1,000倍稀釈液による各群における反応の推移



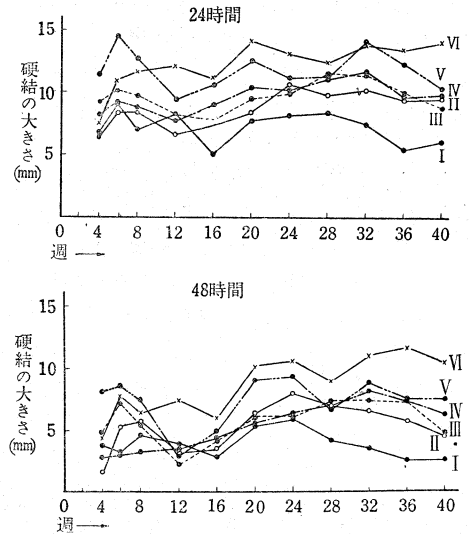
III 実験成績

1. 1,000倍稀釈液によるツベルクリン反応の推移

各群8~12匹による24時間および48時間後における反応の平均値を図示すれば図1の如くである。まず、24時間値についてみるに、弱毒菌感作のI群およびII群においては、2週ではいまだ反応は弱く、反応の大きさも6~7mmであるが、4週にいたり反応はやや急上昇し、その大きさも12mmとなつた。さらに、6週では反応は最大となり、その大きさは14.5mmであつた。しかるに8週では、再び反応の減弱をきたし、その大きさは4週のものとはほぼ同大であつた。その後、I群の反応は漸減し、6週が最も小さく約10mmであつた。次で、再び上下の大きな波を描きつつ40週においては12.5mmであつた。しかるにII群では8週からはほとんど一直線をもつて反応は徐々に上昇し40週においては15mmとなつた。次にH₂株1mg感作のV群をみるに、2週の反応は小さいが、4週では反応は急激に上昇し約18mmとなり、次で、6週は最も大きく20mmを示した。その後、反応は一時減弱し12週~16週では17mmであつた。次で、2回ほど大きな波を描きつつ40週に至り17mmを呈した。また、H₂株による他の2群(III群およびIV群)における反応の推移は、さきのII群とV群との中間に位しておるが、この両群とも感作後6週においては反応は最大に達し、次で、一時減弱し、再び上下の変動を示している。最後に死菌感作のVI群についてみるに、反応の発現は他の群に比ぶればややおくれて2週では6mmでしか

く、また、4週でも約14mmであつた。その後1~2mmの差をもつて40週に至つている。さきの生菌感作群においては6週が最高を示し、次で、一度反応の減弱をきたし、再び上下の変動を呈しているものに比ぶれば死菌感作群の変動は最も少なかつた。48時間における各群の推移をみるに、24時間におけるよりも一般に変動は大きいですが、各群とも24時間の場合とほぼ同一の傾向をもつて推移していた。ただ、24時間では変動の最も少なかつたVI群でも20週以後ではかなりの動揺がみられ、36から40週までの変動が最も大きかつた。かくの如く、強毒菌H₂株生菌感作によるものでは反応は強く変動も多かつた。弱毒菌18-b株では反応は弱い変動はやや多かつた。また、BCG株では反応は弱く、変動も少なかつた。死菌感作群では反応は強い変動は最も少なかつた。また、生菌感作群では一般に反応は4週で急激に上昇し、6週では最高を示し、その後一時反応は減弱し、再び多少の変動を示しつつ経過していた。

図2 OT 10,000倍稀釈液による各群における反応の推移



2. 10,000倍稀釈液によるツベルクリン反応の推移

この成績は図2の如くである。まず、24時間についてみるのに、反応の傾向はさきの1,000倍稀釈液とほぼ同一であつた。ただ、V群の6週が他の群に比し反応が大きいのみ異なつていた。なお、全経過を通じ10mm以上の反応を呈したものはV群およびVI群であり、また、III群およびIV群の28~32週であつた。次ぎに、48時間における反応をみるに、VI群以外はすべて10mm以下の弱い反応であり、その変動の傾向も、さきの1,000倍稀釈液における48時間の場合と等しかつた。

3. 対照液による推移

これは全経過を通じ大差なく、5mm以下の弱い反応であつた。

IV 考 案

結核モルモットにおけるツベルクリン反応の推移について、細沼⁶⁾はBCG接種後OT10倍稀釈液を用いて調べた結果、感染後12~15週で反応は最高を示し、その後漸減し、30週に至れば陰性となるという。佐藤¹⁾は人型結核菌の10, 0.1, 0.001mg 感染後にOT5倍稀釈液を用い、130日まで観察したところ、10mg群ではツベルクリン・アレルギーの上昇が早く、かつ、反応も強かつた。しかるに0.001mg群では反応は弱く、その上昇もおそかつた。室橋⁷⁾は幼弱および成熟モルモットにBCGを接種し、OT100倍稀釈液を用いて19週まで調べたところ、反応は4~5週で最大に達し、その後一時下降し、再び上昇しているといつており、屋部⁸⁾は結核牛にOT原液を用いて2カ月間隔で連続ツベルクリン反応を反復すれば毎常動揺消長し、時に陰性期が認められたといつている。かくの如く、これらの観察期間は比較的短かく、かつ使用ツベルクリンも濃厚なものが用いられているが、反応の大きさがあまり大きくはなかつた。すなわち、ツベルクリン・アレルギーは一般に弱いようである。ところが、われわれの実験では無毒菌であるBCGや弱毒菌の18-b株においてもOT1,000倍稀釈液によつてかなり大きな反応を呈した。このようにツベルクリン反応が従来成績よりも強く表われている。これは動物の栄養が良かつたためと思う。かくの如く結核動物の長期観察を行う場合には特に栄養状態に注意することが肝要である。死菌の流動パラフィン感作群はツベルクリン・アレルギーが最も強く、その変動も比較的少ないことがわかつた。これに反し、生菌感作群では、感染菌の種類や菌量によつて、ツベルクリン・アレルギーの発現時期および程度も異なつてゐる。一般に、生菌感作の場合、ツベルクリン・アレルギーは一度上昇し、次で、一時やや下降を呈し、再び上下の変動を示すようである。この最初のツベルクリン・アレルギーの上昇は感染菌の増殖と平行して起るものである。その結果生体は一時アレルギー状態を呈し、次で、免疫現象が起るとともにツベルクリン・アレルギーは再び上昇するものであろう。故に、強毒菌感染の場合、菌の増殖と免疫とが常に交錯

しているため、ツベルクリン反応もこれに伴い比較的変動しているのではなからうか。ところが弱毒菌においては一度増殖したものが、時間の経過とともに減弱するので、反応も漸減してゆくものと考えられる。なお、ここに報告したものは群別の平均値であるが、各個体別の反応の変動については次報で述べる。

V 結 言

われわれは現在検定に用いられている、死菌流動パラフィン感作群に対し、OT1,000倍および10,000倍稀釈液を用い、感作後40週まで、ほぼ4週毎に反応を調べた結果、

1. 死菌流動パラフィン6mg感作群における、ツベルクリン・アレルギーの発現は生菌感作群に比し、ややおくれるが、反応の大きさは最も強かつた。また、観察期間中における変動は最も少なかつた。
2. 18-b株およびBCG株生菌感作群では反応が最も弱く、変動は18-b株ではやや多いが、BCG株では比較的少なかつた。
3. H₂株生菌感作群では反応は強いが変動も最も多かつた。
4. 一般に生菌感作群では感作後6週にツベルクリン・アレルギーは最高を示し、次で、一時反応の減弱時期を経て再び、反応の変動がみられた。

終りに臨み、種々御指導を賜りました、柳沢部長に感謝します。

文 献

- 1) 佐藤 稔：結核，20：13，1942.
- 2) 清水忠夫：結核，25：198，1950.
- 3) 菅原庸雄：抗酸研誌，7：97，1951.
- 4) Freund, J. & Gottschall, R.Y. : Arch. Pathology, 34：73，1942.
- 5) 橋本達一郎：結核，30：4，1955.
- 6) 細沼栄一：結核，221(7,8合併)：1，1947.
- 7) 室橋豊穂：児科雑誌，47：21，1941.
- 8) 屋部憲清：日本獣医学雑誌，12：179，1950.