

# ツベルクリン脱感作の単核細胞と菌との相互関係に及ぼす影響について

原澤 道美・立花 暉夫・吉田 清一

国立予防衛生研究所結核部 (部長 柳沢 謙)

東京大学冲中内科教室 (教授 冲中重雄)

受付 昭和 32 年 3 月 19 日

## まえがき

結核免疫モルモットでは、腹腔内感染菌に対して、腹腔内単核細胞の動員が正常モルモットにくらべてより早く、またその単核細胞中には、結核菌の発育を阻止するものがあると思われる所見をえ、これをすでに前報<sup>1)</sup>に報告した。

さて、ツベルクリン脱感作は、それにより結核におけるアレルギーと免疫との関係を明らかにせんとする1つの実験方法として、広く応用せられ、いままで多数の業績<sup>2)</sup> 11) が報告せられている。そして、既感作動物をツベルクリンで脱感作すると、これらの動物において病変の軽減、生存日数の延長といった防禦力の上昇がみられ、多くの報告は、それをもつてアレルギーと免疫とは別個のものであるという説の根拠にしている。しかし大原<sup>12)</sup> は、感染動物への頻回ツベルクリン注射をむしろ追加免疫と考え、アレルギーは免疫に至る過程にある不完全免疫の状態であるとしているが、柳沢<sup>13)</sup> は、感染菌の臓器内消長を詳細に追求した成績より、ツベルクリン脱感作操作は、既感染菌の減少と病変の軽減をもたらすが、再感染菌に対する防禦力の上昇を促さず、むしろ減退させることを報告し、それに反対している。

かくの如く、その実験成績についての解釈は未だ必ずしも一致していない。そこで著者らは、ツベルクリン脱感作が、結核免疫に大きな役割を演じていると考えられる、上述の如き菌と単核細胞との相互関係に、如何なる影響を及ぼすかを検索してみた。

## 実験材料および実験方法

- 1) 動物: 体重200~250g の20匹 (実験1) および体重340~430g の29匹 (実験2) の計49匹の健康モルモットを使用した。
- 2) 使用結核菌: a) BCG, b) 有毒人型結核菌H<sub>2</sub>株。いずれも本研究室で保存の株で、凍結乾燥してあらかじめ菌液, 生菌単位数の既知のものを用いた。
- 3) 感作および感染法: 前者には, 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留水で再遊離し, 2mg/mlの菌液としてその0.5mlを右下腹部皮

下に接種して免疫した。動物1匹あたりの接種量は1mgで、実験1では $23 \times 10^6$ 生菌単位、実験2では $39 \times 10^6$ 生菌単位である。後者には腹腔内感染を行つた。すなわち、0.01mg/mlの割にグリコーゲンを含む生理的食塩水にて作つた、人型結核菌H<sub>2</sub>株の0.01mg/mlの菌液、10ccずつを腹腔内に接種した。動物1匹あたりの接種量は0.1mgで、実験1では $38 \times 10^5$ 生菌単位、実験2では $38 \times 10^4$ 生菌単位である。

4) ツベルクリン脱感作操作: OTの100倍稀釈液0.25ccより、動物の健康に留意しながら漸次高濃度のものを、腋窩部皮下に左右交互または腹腔内に注射し、脱感作開始後4週目には、1回の注射量はOTの原液0.5ccに至つた。

5) ツベルクリン反応の測定: OTの100倍稀釈液を使用し、0.1ccの皮内注射後24時間の硬結の長短径を測定した。

6) 腹腔内滲出細胞の採取法: H<sub>2</sub>腹腔内感染後、実験1では24時間、3日、7日目に、実験2では24時間、3日、5日目に、それぞれ動物を2~3匹ずつ屠殺剖検し、ヘパリンを含むTyrode溶液30mlを腹腔内に注入し、無菌的にピペットにて腹腔滲出液を採取した。直ちに、細胞数および細胞種類の消長を観察すると共に、その定量培養を行つた。

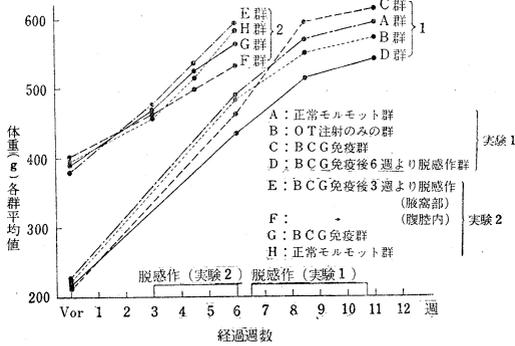
7) 腹腔内滲出細胞中の生菌単位数測定法: 上述の方法にて、1匹の動物より約25mlの滲出液が採取できる。その10mlをとり、毎分1,000回転にて約3分間遠心沈澱し、その沈澱より細胞成分を得た。次に、細胞中の菌を前報記載<sup>1)</sup>の如くして定量培養した。

## 実験成績

実験1. 実験概要: 実験目的より次の4群に分類した。すなわち、A群—正常モルモット群、B群—正常モルモットにD群と同時に、同量のOTを腋窩部皮下に左右交互に注射した群、C群—BCGの1mgを接種してから10週目の群、D群—BCGの1mgを接種後、6週目から4週間にわたりツベルクリン脱感作を行つた群の如くである。これらの動物に人型結核菌H<sub>2</sub>株の0.01mg/mlの菌液、10ccを腹腔内に接種し、腹腔内単核細胞反応と

共に、腹腔内滲出細胞中の結核菌の消長を上述の如き方法にて検索した。

図1 ツベルクリン脱感作と体軀曲線



実験成績：各群の体軀曲線は図1に示す如くで、脱感作群はやや他群に比し体重増加が少ないが、大差ではなく、毛並もよく一般状態は良好であつた。ツベルクリン皮内反応の推移は、A、B両群はいずれの時期も陰性であるが、C、D両群のそれは、BCG接種6週後は全例陽性で、このうちD群は、脱感作操作終了時は全例陰性となつた。

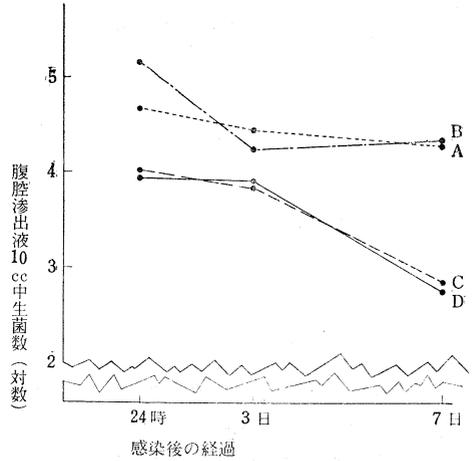
各群における腹腔滲出細胞中の生菌数の消長は、表1および図2に示す如くである。正常モルモット群(A群)と結核免疫モルモット群(C群)とのそれは、明らかに異なり、免疫モルモットの腹腔内滲出細胞の中には、結核菌の発育を阻止するものがあると思われる所見が得られた。この所見は前報<sup>1)</sup>に報告した成績とほぼ一致している。

つぎに、脱感作群D群の細胞内生菌数の消長をみると、ほぼC群のそれと一致して経過しているのが認められる。すなわち、本実験の如き脱感作によつては皮膚アレルギーは消失しても、腹腔内単核細胞内の結核菌発育阻止作用には、ほとんどその影響が認められなかつた。OTを脱感作群と同時に、また同量注射した群(B群)では、その腹腔滲出細胞中生菌数の消長は、正常モルモット

表1 腹腔滲出細胞中生菌数(腹腔滲出液10ccに換算)(実験1)

群別	接種後日数	動物番号	生菌数	群別	接種後日数	動物番号	生菌数
A	1	1	24,000	C	1	1	10,600
	1	2	98,000		1	2	9,200
	3	3	24,000		3	3	6,800
	3	4	34,000		3	4	7,000
	7	5	15,000		7	5	660
B	1	1	144,000	D	1	1	8,200
	1	2	154,000		1	2	9,600
	3	3	146,000		3	3	4,600
	3	4	1,880		3	4	12,600
	7	5	17,600		7	5	620

図2 腹腔滲出細胞中生菌数の消長(実験1)



ト群(A群)とほぼ同じ order で経過しており、C、D両群にみられたような、単核細胞の性状の変化は認められなかつた。

なお、これら各群の腹腔滲出細胞の細胞数および細胞種類の変動を示すと、表2の如くである。まず、細胞数

表2 細胞数および種類の変動(実験1)

群別	日	細胞数 1mm <sup>3</sup> 中	細胞種類(%)		
			好中球	好酸球	単核細胞
A	1	2,300	84.5	5.3	10.2
	3	1,650	18.3	1.0	80.7
	7	2,100	4.0	0	96.0
B	1	2,150	35.3	6.0	58.7
	3	1,950	8.8	0.7	90.5
	7	1,200	6.0	0.5	93.5
C	1	2,900	15.0	0.5	84.5
	3	1,400	4.5	0.5	95.5
	7	1,700	0	1.5	98.5
D	1	1,900	6.3	0	93.7
	3	1,650	5.0	0.5	94.5
	7	1,500	0.5	0	99.5

ではこれら4群の間に、その変動に大差は認められない。細胞種類の変動をみると前報<sup>1)</sup>と同様にBCG免疫群(C群)では、正常モルモット群(A群)に比し、単核細胞の動員がより速かなることが、本実験においても明らかに認められた。また、ツベルクリン脱感作群(D群)では、この場合もC群とほぼ同様の変動を示しているが、興味のあるのはOTのみを注射した群(B群)で、その単核細胞動員様式は、ほぼA群、C群の中間の値を示していることである。

実験2. 実験概要：腹腔内に直接ツベルクリン液を頻

回に注入し、その影響を観察するため、次の4群に分つて実験した。すなわち、E群—BCGの1mgを接種後、3週目から4週間にわたり腋窩部皮下を用いてツベルクリン脱感作を行つた群、F群—BCGの1mgを接種後、3週目から4週間にわたり腹腔内を用いてツベルクリン脱感作を行つた群、G群—BCGの1mgを接種してから7週目の群、H群—正常モルモット群の如くである。これらの動物の腹腔内に人型結核菌H<sub>2</sub>株を接種し、上述と同じ方法にて、腹腔内単核細胞反応、腹腔内滲出細胞中の生菌数の消長を、検索した。

実験成績：体重曲線は図1にみる如くで、各群の間に大差は認められない。ツベルクリン皮内反応の推移は、BCGを接種した、E、F、Gの3群は、接種後3週目にはいずれもツベルクリン反応は陽性となり、このうち、E、F両群は、脱感作操作終了時は全例陰性となつた。

各群における腹腔滲出細胞中の生菌数の消長は、表3にみる如くで、正常モルモット群(H群)、BCG免疫群

表4 細胞数および種類の変動(実験2)

群別	細胞日	細胞数 1mm <sup>3</sup> 中	細胞種類%		
			好中球	好酸球	単核細胞
E	1	1,100	2.8		97.2
	3	1,450	1.0		99.0
	5	1,300	1.0		99.0
F	1	1,860	4.1	0.4	95.5
	3	1,300	0.5	0.3	99.2
	5	1,360	2.2		97.8
G	1	1,270	4.0	0.2	95.8
	3	1,550	2.5		97.5
	5	1,350	0.8		99.2
H	1	1,550	73.3	3.2	23.5
	3	1,450	8.7		91.3
	5	1,450	1.3	3.7	95.0

表3 腹腔滲出細胞中生菌数(実験2)

群別	接種後日	動物番号	生菌数	群別	接種後日	動物番号	生菌数	
E (脱感作 腋窩群)	1	1	40	G (BCG群)	1	1	20	
	1	2	26		1	2	6	
	1	3	40		1	3	0	
	3	4	3,600		3	4	320	
	3	5	40		3	5	40	
	3	6	0		5	6	0	
	5	7	240		5	7	180	
	5	8	6		H (正常群)	1	1	3,400
	5	9	20			1	2	3,500
F (脱感作 腹腔群)	1	1	180	3		3	3,400	
	1	2	6	3		4	3,200	
	3	3	60	5		5	2,800	
	3	4	0	5		6	3,000	
	5	5	20					
	5	6	0					
	5	7	6					

(G群)および腋窩部にツベルクリン脱感作を行つた群(E群)のそれは、実験1の同じ各群の消長と、同様の傾向を示している。また、E群と同時に、同量のOTを腹腔内に注射して脱感作したF群も、G、E両群とほぼ同じorderで経過しているのが認められた。

次に、これら各群の腹腔滲出細胞の細胞数および細胞種類の変動を示すと、表4の如くである。細胞数では、これら4群の間に、その変動に大差は認められない。細胞種類の変動は、H群とG、E両群とは明らかに異なり、実験1と同じ成績が得られた。また、F群はこの場合も、G、E両群とほぼ同様の変動を示していた。

総括ならびに考案

ききに著者らは、腹腔内感染菌の単核細胞中の消長を

追求することにより、結核免疫動物の単核細胞には、結核菌の発育を阻止するものがあると思われる所見を得、それをすでに前報<sup>1)</sup>に報告したが、ツベルクリン脱感作処置が、これらの所見に対し、如何なる影響を及ぼすかを検索してみた。その結果、上述の如く、ツベルクリン脱感作により皮膚アレルギーは減弱ないし消失しても、免疫動物の単核細胞の免疫学的特性にはほとんどその影響が認められないことを観察しえた。

当研究所の柳沢ら<sup>13)</sup>は、ききに、臓器中の結核菌の消長を示標として、ツベルクリン脱感作の感染菌に対する影響を詳細に検索した。その結果、ツベルクリン脱感作は初感染菌をなくすることができるが、BCGにより免疫した動物を脱感作しても二次感染菌に対する抵抗力の増加はなく、むしろ減弱せしめることを認め、脱感作された状態そのものと抗菌免疫とは直接的な関係がないとしているが、著者らの実験成績は、この所見を裏付ける1つの知見と思われる。

さて、ツベルクリンの脱感作実験から、結核症における免疫とアレルギーの問題を明らかにしようとして試みた報告の多くは、その実験結果を、アレルギーと免疫とは別個の機構に属する現象と見なすことより説明<sup>2)・11)</sup>しようとしている。それに対し、大原ら<sup>12)</sup>は、脱感作により血中抗体価の上昇がみられ、またこの血中抗体価の消長は生存日数とほぼ平行する点を主な根拠として、脱感作をむしろ追加免疫と考え、アレルギーは免疫に至る過程にある不完全免疫の状態であるとして、上述の二元説に反対している。しかし、著者らの成績では、ツベルクリン脱感作により、免疫動物の免疫学的特性がより強くなるという所見は得られなかつた。なお、脱感作操作により血中抗体が上昇するという報告<sup>14)・17)</sup>は少なくないが、血中抗体が抗菌的であるという直接的な証明はなく、こ

の点についてはなお検索を要する問題と思われる。また、柳沢ら<sup>3)</sup>は脱感作に至る動的な過程を注目している。すなわち、既感染動物へのツベルクリン注射は病巣反応を惹起し、この急激な炎症過程が、その中にある菌に対し抗菌的に作用するのではないかとしている。そしてその抗菌作用の機序として、炎症が病巣にもたらす物理化学的条件の変化およびツベルクリンにより細胞が崩壊し<sup>18)</sup>、いわゆる細胞内抗体が流出して局所的にその濃度が高まることなどが考えられるとしている。なお、著者らは、いわゆる Tuberculin-Cytolysis<sup>18)</sup> 現象が、この場合如何なる役を演ずるかをみるため、実験2において、直接腹腔内にツベルクリン脱感作を行った群を作り、これを他の群と比較してみたが、有意の差を掴みえなかつた。

以上の如く、脱感作実験の機序については、なお明らかでない点が少ないが、今後の検索に期待するところが大きい。

なお、著者らは本実験においても、その腹腔内単核細胞反応を同時に検索した。前報に報告した如く、BCG免疫群では正常モルモット群に比し単核細胞の動員がより速かなることが、本実験においても明らかに認められたが、この場合も、ツベルクリン脱感作の影響はほとんど認められなかつた。しかし、正常動物にOTのみを注射した群では、単核細胞の動員は、正常モルモットのそれよりもやや早くなることが認められた。これらの単核細胞動員様式の差の意味づけについては、さきに報告した如き動物の種によつてもそれが異なるという知見<sup>19)</sup>と共に、目下さらに検討を加えている。

## 結 語

ツベルクリン脱感作が、結核免疫に大きな役割を演じていると考えられる、菌と単核細胞との相互関係の上に、如何なる影響を及ぼすかを検索してみた。その結果、ツベルクリン脱感作は、免疫モルモットの単核細胞の免疫学的特性、すなわち、腹腔内感染結核菌に対して、単核細胞の動員が正常モルモットに比し、より早く、またその単核細胞中には、結核菌の発育を阻止するものがあると思われる知見に対し、ほとんど影響を及ぼさなかつた。また正常モルモットにOTのみを長期にわたり注射しても、免疫動物のように、単核細胞に結核菌発育阻止作用は現われなかつたが、しかし単核細胞の動員は、正常動物のそれよりもやや早くなることが認められ

た。

(柳沢部長、冲中教授の御指導御校閲に、深く感謝致します)

## 文 献

- 1) 原沢道美他：結核，32：406，1957.
- 2) 貴島定和：結核，8：1399，1411，1450，1459，1930.
- 3) Weinzirl, J. et al. : Am. Rev. Tuberc., 23: 393, 1931.
- 4) Siegel, J. : Beitr. z. Klin. Tbk., 84 : 311, 1934.
- 5) Rothschild, H. et al. : Bull. Johns. Hopk. Hosp., 54: 232, 1934.
- 6) Derick, C.L. et al. : Am. Rev. Tuberc., 32: 218, 1935.
- 7) Pagel, W. : J. Path. Bact., 44: 643, 1937.
- 8) Higginbotham, M.W. : Am. J. Hyg., 26: 197, 1937.
- 9) Birkhang, K. : Acta Tuberc. Scand., 11: 199, 1937.
- 10) Branch, A., & Knoop, G.V. : Am. Rev. Tuberc., 35: 247, 1937.
- 11) Rich, A.R. : The pathogenesis of tuberculosis. Charles C. Thomas. 1951.
- 12) 大原 達他：結核の研究，1：39，1953.
- 13) 柳沢 謙他：日本細菌学雑誌，10：839，昭30.
- 14) 磯 俊六：東京医学会雑誌，55：70，1941.
- 15) 小野江為則・志田律三：日本病理学雑誌，37：107，1948.
- 16) Boyden, S.V. et al. : J. Immunol., 68: 577, 1952.
- 17) Clawson, B.J., & Baker, A.B. : J. Inf. Dis., 5: 297, 1935.
- 18) Favour, C.B. : Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 65: 269, 1947.
- 19) 原沢道美他：腹腔内単核細胞の免疫学的研究，第1報～第6報，医学と生物学，39(4)：118，39(6)：203，40(2)：76，40(4)：150，40(6)：231，41(2)：67，昭31.