

# 薬剤による結核発病阻止における 既往 BCG 接種の影響に関する実験的研究

島 田 冬 樹

名古屋大学医学部予防医学教室 (指導 岡田博教授)

受付 昭和 34 年 4 月 25 日

## 緒 言

抗結核剤が結核の治療はもとより発病阻止にも使用され有効なことが立証されるようになった。この抗結核剤による発病阻止についての動物実験的研究は当教室の大西<sup>1)</sup>が、抗結核剤による結核病変阻止効果は INAH が他より優れ、しかも菌感染後早期ほど、ことに感染と同時に投与を開始した場合が有効であることを指摘した。この問題についてはその他柳沢<sup>2)</sup>、Ferebee and Palmer<sup>3)</sup>らの研究がある。またツベルクリン反応自然陽転者の抗結核剤投与による発病阻止についても、当教室の岡田<sup>4)</sup>の研究があり効果があげられているが、このさい既往に BCG 接種がある場合抗結核剤による発病阻止効果はどうであるかの研究は乏しいので、これらの点を動物実験的に究明せんとした。

なお人体において自然陽転と BCG 陽転の鑑別がはなはだ困難とされており、実際問題として BCG による発病阻止と抗結核剤による発病阻止との優劣も論ぜられるので、この点についても同時に研究した。

また近年抗結核剤耐性菌の自然感染例が当教室の西谷<sup>5)</sup>によつて発表せられ、それ以来その他にも報告があり<sup>6)</sup>今後とも増大すると思われるので、薬剤耐性菌感染時の抗結核剤による発病阻止についても検討した。

## 研究 方 法

### 1) 実験動物および実験群 (表 1)

体重約 350 g, 生後約 60 日の Römer 反応陰性の白色雄性海狸 80 匹を以下のように 8 群に分けた。すなわち BCG 接種 4 週後  $H_{37}Rv$  および SM 耐性  $H_{37}Rv$  の 2 種菌株をおのおのの感染せしめ、その日から 6 週間 INAH を投与した 2 群 (BCG +  $H_{37}Rv$  + INAH 群, BCG +  $H_{37}RvR \cdot SM$  + INAH 群と略記) と同様な操作であるが INAH を投与しない 2 群 (BCG +  $H_{37}Rv$  群, BCG +  $H_{37}RvR \cdot SM$  群と略記), BCG を接種せず菌感染後 INAH を投与した 2 群 ( $H_{37}Rv$  + INAH 群,  $H_{37}RvR \cdot SM$  + INAH 群と略記) および以上の対照として菌感染のみの 2 群 ( $H_{37}Rv$  群,  $H_{37}RvR \cdot SM$  群と略記) とした。

表 1 実験群

群別)	実験計画	対象動物数
1. $H_{37}Rv$ 群	4 W $H_{37}Rv$ 6 W	9
2. $H_{37}RvR \cdot SM$ 群	BCG $H_{37}RvR \cdot SM$	10
3. BCG + $H_{37}Rv$ 群	BCG $H_{37}Rv$	9
4. BCG + $H_{37}RvR \cdot SM$ 群	BCG $H_{37}RvR \cdot SM$	10
5. $H_{37}Rv$ + INAH 群	$H_{37}Rv$ INAH	9
6. $H_{37}RvR \cdot SM$ + INAH 群	$H_{37}RvR \cdot SM$ INAH	9
7. BCG + $H_{37}Rv$ + INAH 群	BCG $H_{37}Rv$ INAH	12
8. BCG + $H_{37}RvR \cdot SM$ + INAH 群	BCG $H_{37}RvR \cdot SM$ INAH	12

### 2) BCG 接種および結核菌感染

BCG は 0.5 mg を右股腹部皮内に接種し 4 週後  $H_{37}Rv$  および  $H_{37}RvR \cdot SM$  株をおのおの 0.001 mg 左股腹部皮下に接種した。 $H_{37}RvR \cdot SM$  株は予研より分与をうけたもので使用時 SM 1,000  $\gamma$  完全耐性株であつた。

### 3) INAH 投与

武田薬品製 Isonicotinic acid hydrazide を生理的食塩水に溶解, 3 mg/day を大西<sup>1)</sup>の方法に従い菌感染当日から開始し 6 週間毎日持続投与した。

### 4) 効果判定

#### イ. 体重増加率

各実験群につき実験開始時体重 (W) と実験終了時体重 (W') を測定  $\frac{W' - W}{W} \times 100$  によつて増加率を算出比較した。

#### ロ. 菌感染後の局所変化

結核菌感染後 2 週に感染局所および所属淋巴腺の変化を観察比較した。

#### ハ. ツベルクリン反応

実験前および実験開始後 7, 10 週に予研製の Lot No. 16 Old tuberculin を 1,000 倍に稀釈したものを毎回初回部位を選び注射し 24 時間後の硬結径を測定比較した。

#### ニ. 肉眼的剖検所見

実験終了後 5 日間放置し全例剖検, 肺, 肝, 脾につい

て結核結節の形成程度を観察比較した。

ホ. 脾重量

剖検時脾重量を測定し観察比較した。

ヘ. 定量培養

肺, 肝, 脾の一定部位から 0.1 g の組織片を切除し 1% NaOH 溶液にておのおの 10 倍組織粥とし, その 0.1 ml を 1% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 培地 (小川培地) 2 本宛に培養し, 4 週後に発生した集落数を比較した。

ト. 病理組織学的所見

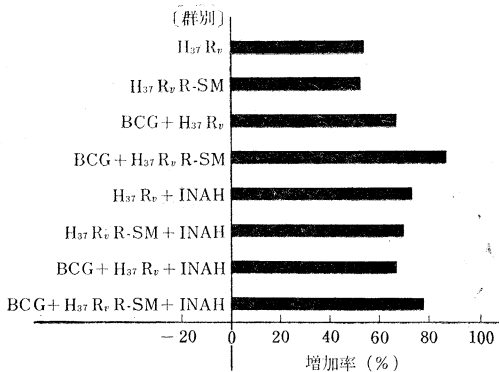
肺, 肝, 脾について 10% Formalin 固定, Paraffin 切片とし, Haematoxylin-Eosin 染色を行なつて鏡検, 病理組織学的所見を比較した。

研究成績

1) 体重増加率 (図1)

各群とも全例実験終了時体重は増加したが, 結核菌感染のみの 2 群すなわち H<sub>37</sub>Rv, H<sub>37</sub>RvR・SM 群は他の 6 群に比し増加率が低く約 50% であつたが, 他群では 70~80% の増加率を示した。

図1 体重増加率



2) 菌感染後の局所変化 (表2)

菌感染のみの H<sub>37</sub>Rv, H<sub>37</sub>RvR・SM 群では対象動物の多くに局所変化を伴い所属リンパ腺の腫脹がみられたが, BCG 免疫のみの群, 菌感染後 INAH を投与した群および BCG 接種後 INAH を投与した群では局所変化およびリンパ腺の変化が少なく, ことに BCG+H<sub>37</sub>Rv+INAH, BCG+H<sub>37</sub>RvR・SM+INAH の 2 群は両変化とももつとも軽かつた。

3) ツベルクリン反応 (図2)

実験前には 5 mm 以下の非特異反応を示したが, 7, 10 週には多くは 10 mm 以上の硬結が発現した。しかし H<sub>37</sub>RvR・SM+INAH 群は 7, 10 週ともツベルギーが弱く実験前の反応の大きさと著差がなかつた。また BCG+H<sub>37</sub>RvR・SM+INAH 群のツ反応も弱く H<sub>37</sub>RvR・SM+INAH 群と他群の中間に位していた。

表2 菌感染後の局所変化

群 別	対象動物数	菌感染後の局所変化						
		局 所			淋 巴 腺			
		卅	卅	+	卅	卅	+	
H <sub>37</sub> Rv	6		3	3		1	5	
H <sub>37</sub> RvR・SM	7			6	1	2	4	1
BCG+H <sub>37</sub> Rv	5			5		2	3	
BCG+H <sub>37</sub> RvR・SM	6	1		5	1		5	
H <sub>37</sub> Rv+INAH	4	1		3		2	2	
H <sub>37</sub> RvR・SM+INAH	5			5		1	4	
BCG+H <sub>37</sub> Rv+INAH	9			9			9	
BCG+H <sub>37</sub> RvR・SM+INAH	9			9		1	8	

表中空欄は「該当動物なし」を示す

表中局所・リンパ腺の記号

局所変化	リンパ腺腫脹度
- なし	- 腫脹なし
+ 発赤のみ	+ 米粒大
卅 硬結あり	卅 小豆大
卅 瀰漫を伴う	卅 大豆大

4) 肉眼的剖検所見 (表3)

菌感染のみの H<sub>37</sub>Rv, H<sub>37</sub>RvR・SM 群では, 肺, 肝, 脾ともかなりの肉眼的結核結節の形成を認めたが, これに比し他群は一般に少なかつた。

BCG 免疫のみの 2 群および菌感染後 INAH を投与した 2 群の間では, 各臓器の結核結節の形成程度に著差がみられなかつたが, BCG+H<sub>37</sub>Rv+INAH, BCG+H<sub>37</sub>RvR・SM+INAH の 2 群では結核結節の形成はほとんど認められなかつた。

5) 脾重量 (表4)

菌感染のみの H<sub>37</sub>Rv, H<sub>37</sub>RvR・SM 群では対象動物の多くは 1 g 以上を示したが, 他群では 1 g 以上を示したのは半数程度でことに BCG+H<sub>37</sub>Rv+INAH, BCG+H<sub>37</sub>RvR・SM+INAH 群では 1 g 以上を示したものは 1 例もなかつた。

6) 定量培養成績 (表5)

菌感染のみの H<sub>37</sub>Rv, H<sub>37</sub>RvR・SM 群は肺, 肝, 脾ともほとんどの例にかなりの数の集落を認めた。BCG 免疫のみの 2 群は菌感染のみの 2 群に比し集落の発生をみたものは肺, 肝, 脾とも少なかつた。菌感染後 INAH を投与した 2 群のうち, H<sub>37</sub>Rv+INAH 群は BCG 免疫群と著差がなかつたが, H<sub>37</sub>RvR・SM+INAH 群すなわち SM 耐性 H<sub>37</sub>Rv 株を感染させた当日から INAH を投与した群からは, 肺, 肝, 脾とも全く集落をみなかつた。

また BCG+H<sub>37</sub>Rv+INAH, BCG+H<sub>37</sub>RvR・SM+INAH の 2 群すなわち BCG 接種後 2 種菌株をそれぞれ感染せしめその後 INAH を投与した群からは集落は全く発生しなかつた。

図2 ツベルクリン反応

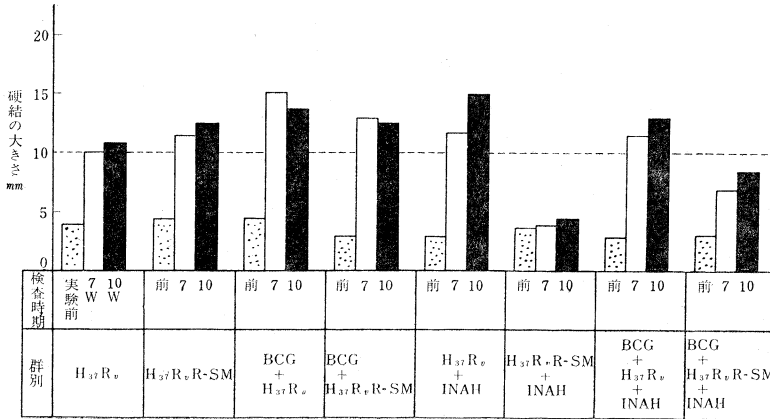


表3 肉眼的剖検所見

群別	対象動物数	肺					肝					脾				
		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
H <sub>37</sub> R <sub>v</sub>	6	3	3				2	4							6	
H <sub>37</sub> R <sub>v</sub> R·SM	6	5	1						6						2 2 1 1	
BCG + H <sub>37</sub> R <sub>v</sub>	4			4					1 3						4	
BCG + H <sub>37</sub> R <sub>v</sub> R·SM	4				4									1 1 2		
H <sub>37</sub> R <sub>v</sub> + INAH	4			1 3						4					1 3	
H <sub>37</sub> R <sub>v</sub> R·SM + INAH	5			3 2						5					4 1	
BCG + H <sub>37</sub> R <sub>v</sub> + INAH	9				9					9					2 7	
BCG + H <sub>37</sub> R <sub>v</sub> R·SM + INAH	9				9					9					9	

表中空欄は「該当動物なし」を示す

結核結節形成程度  
 - 認めず  
 + 数コ  
 冊 10コ程度  
 冊 2, 30コ程度  
 冊 多数

表4 脾重量

群別	対象動物数	脾重量	
		1g以上	1g以下
H <sub>37</sub> R <sub>v</sub>	6	5	1
H <sub>37</sub> R <sub>v</sub> R·SM	6	5	1
BCG + H <sub>37</sub> R <sub>v</sub>	4	2	2
BCG + H <sub>37</sub> R <sub>v</sub> R·SM	4	2	2
H <sub>37</sub> R <sub>v</sub> + INAH	4	2	2
H <sub>37</sub> R <sub>v</sub> R·SM + INAH	5	1	4
BCG + H <sub>37</sub> R <sub>v</sub> + INAH	9	0	9
BCG + H <sub>37</sub> R <sub>v</sub> R·SM + INAH	9	0	9

つとも強度であつた。他の6群は菌感染のみの2群に比し肺, 肝, 脾とも結核病変の程度が軽かつたが, 病理組織学的所見からは群間に優劣はつけがたかつた。

考 案

われわれの実験において H<sub>37</sub>R<sub>v</sub> 感性菌感染における BCG 免疫群, INAH 投与群, および BCG 接種後 INAH を投与した群についてみると, 感性菌感染のみの対照群より体重増加率, 諸臓器の肉眼的結核病変程度, 脾重量, 諸臓器の定量培養成績, 病理組織学的所見からみて結核病変阻止効果が明らかに認められたが, そのうちとくに定量培養成績からみてもつとも効果のあつたのは BCG 接種後 INAH を投与した群であつた。しかし BCG 接種および INAH 投与のみの2群間には結核病変阻止効果に著差はみられなかつた。すなわち感性菌感染における抗結核剤による結核発病阻止に対する既往 BCG 接種は好影響を与え, BCG 接種のみ

7) 病理組織学的所見 (表6)

肺, 肝, 脾について結核性病変を, 乾酪化, 被包化, 線維化に分けてその程度をみると, 菌感染のみの H<sub>37</sub>R<sub>v</sub>, H<sub>37</sub>R<sub>v</sub>R·SM 群は, 肺, 肝, 脾とも乾酪化がも

表 5 定量培養成績

群 別	対 象 動物数	肺			肝			脾		
		集 落 数			集 落 数			集 落 数		
		0	1~10	11~51 50 以上	0	1~10	11~51 50 以上	0	1~10	11~51 50 以上
H <sub>37</sub> Rv	6	1	5		2	4		5	1	
H <sub>37</sub> RvR・SM	6		6		2	2	2	1	2	3
BCG + H <sub>37</sub> Rv	4	4			4			2	1	1
BCG + H <sub>37</sub> RvR・SM	4	2	1	1	2	1	1	2		2
H <sub>37</sub> Rv + INAH	4	4			1	3		1	2	1
H <sub>37</sub> RvR・SM + INAH	5	5			5			5		
BCG + H <sub>37</sub> Rv + INAH	9	9			9			9		
BCG + H <sub>37</sub> RvR・SM + INAH	9	9			9			9		

表中空欄は「該当動物なし」を示す

あるいは INAH 投与のみの群より病変阻止力は 大であつた。感性菌感染について江頭ら<sup>7)</sup>は BCG 免疫群において INAH 投与群の方が非投与群より免疫効果が劣る成績を発表しているが、著者の成績は柳沢ら<sup>2)</sup>、前田ら<sup>8)</sup>の成績と酷似していた。また Seibenmann<sup>9)</sup>は SM・PAS 併用投与であるが、その成績は同様な傾向を示している。また菅原<sup>10)</sup>はこれらの関係を投薬中止後の発病に論及し、BCG 免疫と INAH を併用した場合、INAH 投与中はあたかも完全に発病を阻止したようにみえるが、投与中止後に再発する例が多い。しかし INAH 投与のみの場合よりも再発はおくれておるので、INAH の抗結核作用と BCG の免疫力は協力的に作用するものようであると述べている。その点本研究は INAH 投与終了後 5 日間放置後の成績の比較である。

次に SM 耐性 H<sub>37</sub>Rv 菌感染における BCG 免疫群、INAH 投与群、および BCG 接種後 INAH を投与した群についてみると、SM 耐性菌感染のみの対照群より諸成績からみて結核病変阻止効果が明らかに認められたが、そのうちとくに定量培養成績からみてもつとも効果のあつたのは BCG 接種後 INAH を投与した群、および INAH 投与のみの 2 群であつた。しかし BCG 接種後 INAH を投与した群は INAH 投与のみの群より諸臓器の肉眼的結核結節形成程度からみて結核病変阻止効果がやや優れているように思われた。また SM 耐性菌感染に対する BCG の免疫効果は当教室の岡田ら<sup>11)</sup>、Seibenmann<sup>9)</sup>の成績と一致していた。すなわち感性菌感染にも、耐性菌感染にももつとも結核病変阻止効果を認めたのは、BCG 接種後 INAH を投与した群であつた。

次に結核発病阻止に対する BCG による免疫効果と自然陽転認知後抗結核剤による発病阻止の比較が問題となるが、感性菌感染の場合には BCG 免疫も INAH

投与も相似した成績を示したが、SM 耐性菌感染の場合には諸成績、ことに定量培養の成績からみて INAH 投与が BCG 免疫よりも結核病変阻止効果において優れている成績を得たことは興味深い。この点について、Seibenmann<sup>9)</sup>は病変の著しかつた肺では BCG 接種よりも SM と PAS 併用投与が有効であつたと述べている。すなわち抗結核剤による結核発病阻止がさかんに行なわれている現在、本研究の成績より BCG 接種が、抗結核剤投与による発病阻止効果を高める成績を得たことは、この方法の裏付けをしたものと考えられる。

次にツ・アレルギーについてみると 1952 年 Steenken et Wolinsky がはじめて INAH 投与が実験的結核症でツ・アレルギーの発生を強く妨げることを報告し<sup>12)</sup>、橋本<sup>13)</sup>も人体について同様の成績を発表しているが、Desbordes et Fourinier<sup>14)</sup>は増強すると述べている。著者の成績では SM 耐性菌感染に INAH を投与した場合、および BCG 接種後 INAH を投与した場合には、ツ・アレルギーの発現が他の群に比し微弱であつた。

## 結 論

海獣 80 匹を用いて INAH による結核発病阻止における既往 BCG 接種の影響について研究し、あわせて BCG 接種による場合と INAH 投与による場合の発病阻止効果を、体重増加率、諸臓器の肉眼的病理的病変、脾重量、諸臓器の結核菌定量培養成績等により比較した。そのさい SM 耐性菌感染時の INAH による発病阻止についても考究した結果次のような結論を得た。

1) H<sub>37</sub>Rv 感性菌感染の場合、BCG 接種のみの群、INAH 投与のみの群、および BCG 接種後 INAH を投与した群の 3 群とも対照の菌感染のみの群に比し著しく結核病変が僅少であつたが、BCG 接種後 INAH を投与した群は他の 2 者に比しすべてに顕著な結核病変阻止効果をみた。しかし BCG 接種のみと INAH

表6 病理組織学的所見

群別	動物No.	臓器名	乾酪化	被包化	線維化	群別	動物No.	臓器名	乾酪化	被包化	線維化	群別	動物No.	臓器名	乾酪化	被包化	線維化		
H <sub>37</sub> Rv	1	肺 肝 脾	+			BCG + H <sub>37</sub> RvR・SM	16	肺 肝 脾				H <sub>37</sub> Rv + INAH	24	肺 肝 脾	+	+			
	2	〃 〃 〃	++ ++ +				17	〃 〃 〃						25	〃 〃 〃				
	3	〃 〃 〃	++ ++ +				18	〃 〃 〃	+	+				26	〃 〃 〃	+			
	4	〃 〃 〃	+++ +++ +++				19	〃 〃 〃	+	+				27	〃 〃 〃	+	+		+
	5	〃 〃 〃	+++ +++ ++				20	〃 〃 〃	++ ++ +++	++ +++ +++				28	〃 〃 〃	+			
	6	〃 〃 〃	+++ +++ +++				39	〃 〃 〃	+					29	〃 〃 〃				
H <sub>37</sub> RvR・SM	7	〃 〃 〃				H <sub>37</sub> Rv + INAH	40	〃 〃 〃	+			BCG + H <sub>37</sub> RvR・SM + INAH	30	〃 〃 〃					
	8	〃 〃 〃	++ +++ ++	+			42	〃 〃 〃	+				31	〃 〃 〃	+++	+			
	9	〃 〃 〃	+++ ++ +			44	〃 〃 〃	+++ +++ +++	+				32	〃 〃 〃	+	+			
	10	〃 〃 〃	++ ++ +	+		45	〃 〃 〃	+	+				34	〃 〃 〃			+		
	11	〃 〃 〃	++ +++ +++			46	〃 〃 〃		+				35	〃 〃 〃				+	
	12	〃 〃 〃	+++ +++ +			47	〃 〃 〃	+++ +++ +++	+				36	〃 〃 〃			+	+	
BCG + H <sub>37</sub> Rv	13	〃 〃 〃	++ +++ +++			BCG +	21	〃 〃 〃	+			BCG + H <sub>37</sub> RvR・SM + INAH	37	〃 〃 〃	+	+			
	14	〃 〃 〃	++ +++ +++	+			22	〃 〃 〃	++ ++ +	+			38	〃 〃 〃	++ +++ +	+			
	15	〃 〃 〃	+++ +++ +++	+	+		23	〃 〃 〃											

表の空欄は該変化を認めず

授与のみの群には、その効果に著差がなかつた。

2) SM 耐性菌感染の場合も、感性菌の場合とおおむね同様であつたが、しかし感性菌の場合と異なり、INAH 授与のみの群は、BCG 接種のみの群に比し結核病変阻止効果が優れていた。

3) ツ・アレルギーについてみると、SM 耐性菌感染に INAH を授与した場合、および BCG 接種後 INAH を授与した場合には、ツ・アレルギーの発現が他の群に比し微弱であつた。

終りに臨み終始御懇篤な御指導を賜つた岡田博教授に深甚なる謝意を表します。あわせて病理組織学的検索に多大の御教示を賜つた本学病理学教室田内久教授に感謝し、あわせて多大の御助力を戴いた当教室大西積守博士に感謝します。

本論文の要旨は第 34 回日本結核病学会総会で発表した。

#### 文 献

1) 大西積守：結核，30：64，105，昭30；31：145，

昭31.

- 2) 柳沢謙 他：結核の臨床，3：321，昭30.
- 3) Ferebee, S. H. & Palmer, C. E. : Am. Rev. Tbc., 73 : 1, 1956.
- 4) 岡田博 他：第9回日本結核病学会東海地方学会発表，昭30.
- 5) 西谷強：日本臨牀結核，13：47，昭29.
- 6) U. De Bonis : Arch. di Tisiol., 8 : 931, 1953.
- 7) 江頭靖之 他：日本病理学会会誌，41：293，昭27；42：290，昭28.
- 8) 前田道明 他：結核，33：620，昭33.
- 9) C. O. Seibenmann : J. of Immunology, 67 : 134, 1951.
- 10) 菅原庸雄：抗酸菌病研究雑誌，11：24，昭30.
- 11) 岡田博 他：現代医学，3：251，昭29.
- 12) M. Fourstier et A. Blacque-Belair : Poumon, 13 : 7, 1957.
- 13) 橋本龍雄：通信医学，9：386，昭32.
- 14) Jean Desbordes et E. Fourinier : Acta Phtisiologica, 24 : 18, 1956.