

BCG 接種局所反応および接種後のツベルクリン反応の強さと 接種ワクチン中の生菌単位数との相関について

第 1 報 ツベルクリン反応について

大 林 容 二・沢 田 哲 治・朽 木 五 郎 作
張 伸 鑲・川 崎 二 郎・井 上 豊
太 田 淳

結核予防会結核研究所 (所長 隈部英雄)

受 付 昭 和 34 年 6 月 18 日

緒 言

結核免疫とアレルギーとの間の基本的な関連性についての論議はさておき、実際問題として、BCG 接種によつて賦与される免疫の強さをツベルクリンアレルギーによつて推定することの妥当性は、一般に承認されているところである。たとえば、WHO その他の協同研究による詳細な動物実験の成績^{1) 2)}によつても、モルモットについては、BCG 接種後のツベルクリン反応の強さと賦与される免疫の程度との間には明らかな相関関係が認められているし、また BCG ワクチンの人体接種にさいし、ツベルクリンアレルギーの発現が免疫獲得の指標として用いられていることは周知の事実である。

しかし実際問題として、製造される一々のワクチンについてそのアレルギー賦与能を調べることは不可能であるから、これに代わる方法として、試験管内でのワクチンの力価検定が重視され、現在のところ、生菌の定量培養試験がもつとも有力な手段となつている。

原則的には、BCG ワクチンのアレルギーならびに免疫賦与能は主として含有生菌に負うことは周知の事実であり、前記 WHO その他の協同研究³⁾、また日本の研究者の報告等⁴⁾はいずれもこれを認めている。

しかしながら、BCG ワクチン中の生菌単位数と、ワクチンのアレルギー賦与力との相関関係についての統計的な研究はきわめて少なく、わずかに Krohn の報告⁵⁾と、日本 BCG 研究協議会のそれ⁶⁾とを算えるのみである。すなわち前者は、ノールウエイの BCG 製造所で作られた 25 ロットの液体 BCG ワクチンの培養試験成績と当該ワクチン接種後 2~3 カ月のツベルクリン反応陽性率とを検討して、両者の間に有意の相関は認められぬと報告した。

この研究では、ツベルクリン反応としては旧ツベルクリンによる Pirquet 反応を用い、相関係数 r は 0.17 であつた。また日本 BCG 研究協議会による協同研究

では 86 ロットの乾燥 BCG ワクチンが学童に接種(初接種)され、接種より 1 カ月、3 カ月、6 カ月、および 12 カ月後のツベルクリン反応と、それぞれのワクチン中の含有生菌単位数との相関を調べた。その成績によると、接種ワクチン中の生菌単位数と接種後 1 カ月 ($r=0.79$)、3 カ月 ($r=0.52$) のツベルクリン反応陽性率との間には正の相関が認められたが、6 カ月および 12 カ月後のツベルクリン反応陽性率との間には有意の相関が認められなかつた。

以上 2 つの報告は相反する結果を示しているが、両者は接種ワクチンの種類も、ツベルクリン反応検査の方法も異なつていたので、その比較評価は困難である。また上記の報告では集団のツベルクリン反応の強さを陽性率によつて示しているが、最近ではこれを発赤または硬結の平均値で示す場合が多い。なお WHO 関係の検診では PPD による硬結がアレルギーの指標として用いられているので、このようにして表現されたツベルクリンアレルギーの強さと接種ワクチンの生菌単位数との関係についての資料も望まれるところである。

以上のような理由により、最近著者らの行なつた BCG 接種の成績について上述の見地からの検討を試みた。

実 験 I

方法：

この解析には既報⁷⁾の乾燥 BCG ワクチンの耐熱性に関する報告中の資料を用いた。すなわち、グルタミン酸ソーダワクチンと蔗糖ワクチンを 5°C または 37°C に 1~9 カ月の間のいろいろの期間保存したのち人体に接種(初接種)したもので、総計 28 ロットのワクチンを用いた。対象は BCG 接種歴のない、2,000 倍旧ツベルクリンによる発赤 9 mm 以下の小学校 1 年生 3,028 名で、上記のワクチン 0.05 mg を皮内に接種した。ワクチン別の各群の人数は 100 名前後である。接種ワクチンについては同日に培養試験を行なつたが、これには

ワクチンを $10^{-3}mg/ml \sim 10^{-6}mg/ml$ の段階にまで希釈し、その $0.1 ml$ 宛を 1% 小川培地各 5 本に接種し、培養 4 週後の集落数平均値をもつてそのワクチンの生菌単位数とした。接種後のツベルクリン反応検査は 1 カ月、3~4 カ月、および 12 カ月の 3 回行なつた。左前膊における 2,000 倍旧ツベルクリン (Lot 629) による 48 時間後の反応を計測し、それぞれのワクチン接種集団の発赤平均値をもつて、その集団のアレルギーの強さを示すものとした。反応の計測を 4 人の検査者が担当、同一集団を常に同一検査者が検査した。

成績：

図 1 には接種 1 カ月後のツベルクリン反応とワクチンの生菌単位数 (対数で表わす) との相関を示す。

相関係数 r は 0.897 、これは 1% の水準で有意である。

図 2 には同様の関係を 3~4 カ月後のツベルクリン反応について示した。 $r=0.906$ で高度の相関が認められる。回帰直線と横軸との角度が図 1 より大になつているが、これは生菌単位数の少ないワクチンを接種され

図 1 接種 1 カ月後の OT 発赤と生菌単位数との相関 (第 I 実験)

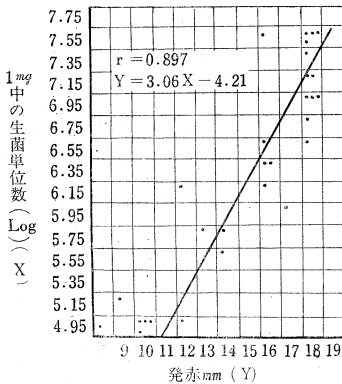


図 2 接種 3~4 カ月後の OT 発赤と生菌単位数との相関 (第 I 実験)

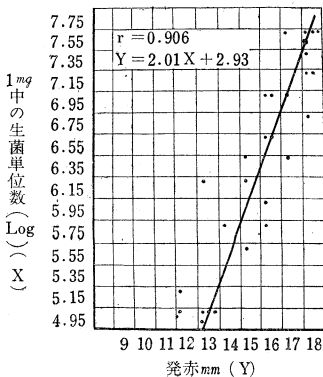
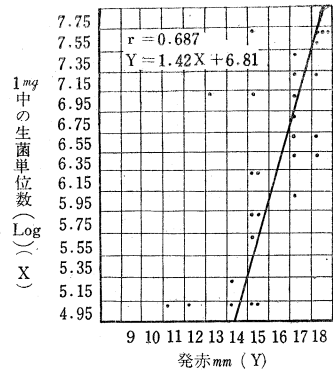


図 3 接種 12 カ月後の OT 発赤と生菌単位数との相関 (第 I 実験)



た集団のアレルギーが遅れて現われたためであろう。

図 3 は 12 カ月後のツベルクリン反応との関係で、依然として高い相関 ($r=0.687$) が認められる。

実 験 II

方法：

この資料もまた乾燥 BCG の耐熱性についての新しい研究の成績より得たもので、BCG の問題としては、別に報告する⁸⁾ 予定である。この実験では $5^{\circ}C$ 、 $30^{\circ}C$ 、 $38.5^{\circ}C$ および $50^{\circ}C$ 等いろいろな温度に 1 カ月間放置した乾燥 BCG ワクチン (グルタミン酸ソーダワクチンおよび蔗糖ワクチン) が 1,211 名の学童に接種 (初接種) された。接種および接種ワクチンの定量培養に関する条件は実験 I とほぼ同様である。接種日には通常 4~5 種類のワクチンを同一学級内で順番に接種を行ない、培養試験も接種日ごとに行なつたため、全体で 45 種類のワクチンについて培養試験を実施した。このためには、各種のワクチンごとに、乾燥ワクチンアンプル 5 本の内容を滅菌蒸留水で再浮遊したものを混ぜ、その一部を培養に、残部を人体接種に用いた。1 種のワクチンについての被接種者数は 20 名内外、全体で 1,211 名が接種を受けた。

接種後 4 カ月および 12 カ月に、日本の旧ツベルクリン (Lot 502) と WHO より分与されたデンマークの 5 TU の PPD (RT 19~21) を用いて反応を調べた。以上 2 種類のツベルクリンのどちらかを左前膊に、他を右前膊に、ともに繰返し部位を避けて注射した。判定は、対象をほぼ折半して 2 名の検査者が担当、48 時間後の旧ツベルクリンの発赤平均値および PPD の硬結平均値をもつてツベルクリン反応の強さを示した。

成績：

成績は図 4~7 に示すとおりである。図 4 および図 5 には、対数で示した接種ワクチン中の含有生菌単位数と

接種4ヵ月後のツベルクリン反応の強度との相関を示した。後者については、図4には旧ツベルクリンによる発赤平均値との相関を、図5にはPPDによる硬結平均値との相関を示した。 r は0.379(旧ツベルクリン)および0.412(PPD)で、実験Iよりはかなり程度が低い、明らかに有意の相関が認められる。また図

図4 接種4ヵ月後のOT発赤と生菌単位数との相関(第II実験)

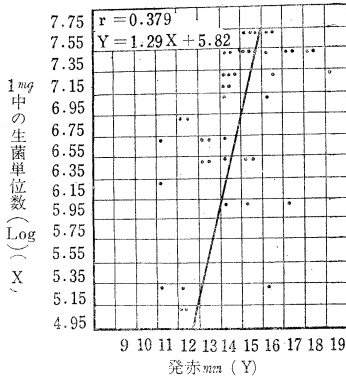


図5 接種4ヵ月後のPPD硬結と生菌単位数との相関(第II実験)

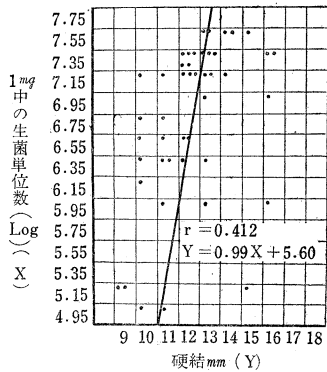


図6 接種12ヵ月後のOT発赤と生菌単位数との相関(第II実験)

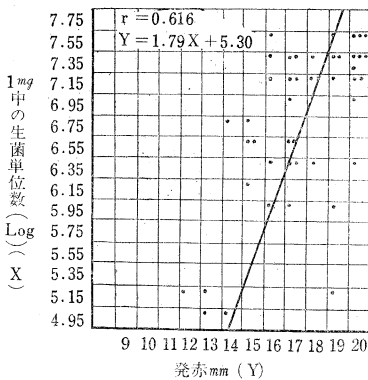
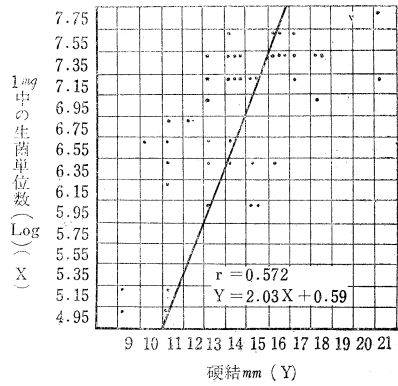


図7 接種12ヵ月後のPPD硬結と生菌単位数との相関(第II実験)



6と図7には接種後12ヵ月のツベルクリン反応とワクチンの生菌単位数との相関を示したもので、旧ツベルクリンでは $r = 0.616$ 、PPDでは $r = 0.572$ と、かなり高い相関が認められた。

考 察

上記の結果はBCGワクチンの力価を試験管内で検定する場合の有益な資料を提供するものと思われる。まずわれわれの成績では、BCGワクチン中の含有生菌単位数と接種後のツベルクリンアレルギーとの間に有意の相関が見出された。これは前記日本BCG研究協議会(以下協議会と略称)の報告と一致し、Krohnのそれとは相反するものである。また協議会の報告で両者の相関が認められたのは接種後1ヵ月と3ヵ月のみで、6ヵ月と12ヵ月には認められなかつたが、われわれの成績では、12ヵ月まで常に有意の相関がみられた。両者の成績の一部がこのようにくい違つた原因については、実験条件の相違することが指摘されよう。すなわち協議会の報告ではツベルクリンアレルギーの強さを集団の陽性率で示したのに反し、われわれの実験ではこれを発赤または硬結平均値で示した。また協議会が使用したワクチンの生菌単位数は、大部分、 $10^{-5}mg$ 中1~50(対数では5~6.7)の間にあつたのに、われわれの成績ではこの巾はさらに広く、ことに生菌単位数の多いワクチン(対数で7.6まで)が相当に含まれている。これらの点がある程度両者の成績のくい違ひの因をなしているものと思われる。

次に上記の相関関係は日本の旧ツベルクリンによる発赤の場合もデンマークのPPDによる硬結の場合もともに認められ、それぞれの相関係数の間にもみるべき差異はなかつた。

また上記の培養試験は1%小川培地によるものであるが、外国の多くのBCG製造所ではLöwenstein-Jensen培地が用いられている。われわれが行なつた両

培地の比較実験の結果⁹⁾では両者の成績はほとんど等しいので、以上の相関関係は Löwenstein-Jensen 培地にも通用するものと考えられる。

ただこのような相関関係はいろいろな条件によつて影響される可能性がある。たとえば各ワクチンの菌の凝集度が著しく異なれば生菌単位の数値も不定となり、したがつて相関度は低下するであろう。さらにまた、このような関係は BCG の同一菌株間のみ成立するものと思われる。多年にわたり培養条件を異にして保存された異なる菌株間の viability とアレルギー原性との関係は必ずしも同一ではないので、このような異なる菌株より作られた BCG ワクチンはたとえそれが同程度の生菌単位数を含むとしても、接種後のツベルクリン反応の強さが同一であることは必ずしも期待できない。ただしこのような場合でも、それぞれの同一菌株の間では上記の相関は成立するものと考えてよいであろう。

著者らの成績中 $10^{-6}mg$ 中の生菌単位数 10 の点をとれば接種 12 カ月後のツベルクリン反応は旧ツベルクリンの発赤で 15 mm, デンマークの PPD の硬結では 13 mm が期待されることになり、これは相当強いツベルクリン反応を示すものといえる。大林¹⁰⁾はかつて $10^{-6}mg$ 中の生菌単位 10 の点をとれば 1 年後に 90% 以上の陽性率が期待されると述べたが、今回の成績もこれとその傾向を同じくしている。

今かりにワクチンの有効性の限界を上記の生菌単位数のところにとれば、現在のグルタミン酸ソーダワクチンは $38.5^{\circ}C$ 1 カ月保存まではこの規格に合格し、3 カ月の保存、あるいは $50^{\circ}C$ に 1 カ月の保存ではややこれを下まわることになる。乾燥 BCG ワクチンの現段階では、これを氷室に保存すれば数年間はほとんど不変であるから、使用前の検定に十分時間をかけることも可能である。したがつてもしワクチンを使用前一定期間特定の温度に保存してのち培養試験を行なうならば、当該ワクチンの特定条件下におけるアレルギー原性についての知見を得たうえでワクチンを使用することも可能であろう。BCG ワクチンを熱帯地で使用する場合などにはこのような検定が必要となるものと思われる。

結 論

BCG ワクチン中の含有生菌単位数と、ワクチンの人体接種後のツベルクリンアレルギーの強さとの間にどの

ような相関関係がみられるかを検討した。第 I 実験では 28 種類の乾燥ワクチンを 3,028 名の学童に接種（初接種）し、1 カ月、3~4 カ月および 12 カ月後の旧ツベルクリンによる反応を調べた。反応の強さを表わすのに発赤の大きさの平均値を用いた。第 II 実験では 45 種類の乾燥ワクチンを 1,211 名の学童に接種し、4 カ月および 12 カ月後の反応を旧ツベルクリンおよびデンマークの PPD を用いて調べた。旧ツベルクリンの場合には発赤平均値、PPD の場合は硬結平均値をもつて反応の強さを表わした。

両実験とも、BCG ワクチン中の生菌単位数とワクチン接種後のツベルクリン反応の大きさとの間には明らかな正の相関がみられた。この関係は接種後 12 カ月まで常に認められ、また、旧ツベルクリンによる発赤、PPD による硬結のいずれの場合にも認められた。

本報告中の統計処理について御教示を賜わつた当研究所島尾忠男、豊原希一両氏に深謝します。

文 献

- 1) Tuberculosis Program, Public Health Service, USA : Bull. Wld Hlth Org., 12 : 31, 1955.
- 2) Tuberculosis Program, U.S. Public Health Service : Amer. J. Hyg., 62 : 185, 1955.
- 3) Tuberculosis Program, Public Health Service, USA : Bull. Wld Hlth Org., 12 : 47, 1955.
- 4) 橋本 : 医学と生物学, 34 : 170, 昭30.
- 5) Krohn, E.F. : Acta Tuberc. Scand., Suppl. 30, 1952, p. 161.
- 6) Japan BCG Research Council : Studies on dried BCG Vaccine, Tokyo, 1952, p. 89.
- 7) Obayashi, Y., Cho, C., Yoshioka, T., Kawasaki, J. & Shimao, T. : Bull. Wld Hlth Org., 17 : 275, 1957.
- 8) Obayashi, Y. et al. : Bull. Wld Hlth Org., 20 : 1165, 1959.
- 9) 未発表
- 10) Obayashi, Y. : Dried BCG Vaccine, Geneva (World Health Organization : Monograph Series, No. 28) 1955, p. 164.