

INH 耐性 BCG に 関 する 研 究

第 4 報 ワクチンの安全性ならびにその感染防禦力に及ぼす INH 早期投与の影響

長 田 進

国立予防衛生研究所結核部 (部長 室橋豊穂)

受付 昭和 34 年 2 月 24 日

緒 言

INH 100 γ/ml 耐性 BCG (以下 BCG・R・INH と略) の菌力は感性 BCG (以下 BCG と略) に比べ弱く¹⁾, したがってその感染防禦力はかなり劣ることは前報告に述べた²⁾。しかし INH 予防内服のもとでなお BCG による免疫効果を維持しようとするのが本菌株分離の目的であるから, INH 投与下における本菌株と BCG の感染防禦力を比較する必要がある。また本菌株の安全性については, 肉眼的所見に關してはすでに述べたが¹⁾, 病理学的検索ではどうか。

以上の点を検討するために次の実験を行つた。

実験 I 安全性試験

実験材料および方法

〔菌液〕

BCG : 凍結乾燥保存中のもの (生菌数 $14.4 \times 10^5/mg$)。

BCG・R・INH : Sauton-potato 培地上 9 日培養の發育良好な菌苔より手振法で菌液を作製 (生菌数 $15.4 \times 10^5/mg$)。

〔使用動物〕

100 倍旧ツ液による皮内反応が陰性で, 体重 400 g 前後の白色モルモット 24 匹を次の 4 群に分かつた。

I 群	BCG	30 mg	皮下接種
II 群	BCG・R・INH	"	"
III 群	BCG	1 mg	静脈内接種
IV 群	BCG・R・INH	"	"

接種後毎週一般状態, 体重の増減, 接種局所の状態等を観察し, 12 週目に全群を屠殺剖検して肉眼的病変の有無を観察したのち, 各群 at random に 3 匹ずつの肺, 肝, 脾および接種局所の病理組織学的検索を行つた。

実験成績

一般状態 : 全群に異常を認めず, 体重も順調に増加した。皮下接種群では接種後 3 週目ころより両群ともに局所の膿瘍形成ないし潰瘍化がみられ, 潰瘍は I 群では

10 週前後で全動物とも癒痕化した, II 群では 12 週でなお半数に膿孔を認めた。なお所属リンパ腺は両群とも触知できなかつた。

肉眼的剖検所見 : I 群の 2 匹に膝蓋腺の米粒大腫脹を認めたほか全動物に異常を認めなかつた。

病理組織学的所見 : 臓器の組織学的所見は皮下接種群, 静脈内接種群とも同様であるのでここでは皮下接種群の所見のみを述べることにする。

I 群 (BCG 皮下接種群)

肺 : 微細な結節性病変が%に認められた。いずれも類上皮細胞が萎縮変形し, 乾酪化はみられず, 治癒・消失過程の病変で進行性のものとは思われない。

肝 : %にグリソン氏鞘および Sinusoid に微細な萎縮性結節が少数みられた。

脾 : %に瀰泡に類上皮細胞結節がみられた。

膝蓋腺 : %に小類上皮細胞巣がみられた。なおリンパ腺内に結核菌が多少みられた。

II 群 BCG・R・INH 皮下接種群

肺 : %に I 群と同様の治癒性病変が認められた。

肝 : %に Sinusoid に萎縮性結節が少数認められた。

脾 : 3 例とも結核性病変は認められない。

膝蓋腺 : %に類上皮細胞巣が認められた。

局所 : 3/3 に多核白血球の滲出の強い乾酪化結節がみられ, また結核菌多数を認めた。

小括 : BCG・R・INH は進行性病変を形成せず, その病理的所見は BCG と全く同様である。

実験 II 感染防禦力に及ぼす INH 早期投与の影響

実験材料および方法

〔菌液〕 実験 I に使用せるもの。

〔使用動物〕 100 倍旧ツ液による皮内反応陰性で体重 400 g 前後の白色モルモット 35 匹を次の 5 群に分かつた。

	菌 株	接種菌数	INH 使用
I 群	BCG	7.2×10^5	-
II 群	"	"	+
III 群	BCG・R・INH	7.7×10^6	-

IV群 BCG・R・INH 7.7×10^6 —
 V群 対照

INH の投与はII, IV群に 1 匹あたり 10 mg を免疫の翌日より 6 週間、毎日皮下注射により行った。投与終了後 3 日目に強毒人型結核菌 H_2 株 1/50mg (感染菌量 4.3×10^4) を皮下注射して感染せしめた。

ツベルクリン反応：免疫後 2, 4 および 6 週目に 100 倍旧ツ液を用いて調べた。

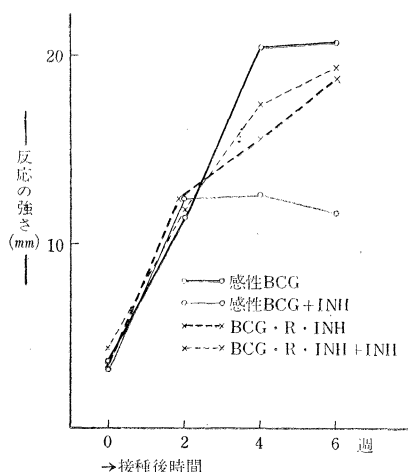
剖検および臓器培養：感染後 6 週目に全群を屠殺剖検して肉眼的病変の有無を観察し、脾、肺の一部についてそれぞれ定量培養を行った。培養および判定方法は前報告と同じである。

実験成績

一般状態：体重は順調に増加し、一般状態とくに病的と思われる変化はみられない。感染局所はII群のほかはいずれも癰疽化またはその傾向が強くなり、所属リンパ腺も触れにくかった。II群では局所は大部分対照同様の潰瘍で、リンパ腺も豌豆大に触知しえた。

ツ反応：図 1 にその推移を示した。すなわち免疫後 2 週目に全群陽転したが、11~12 mm の弱い反応であった。しかし I 群では 4 週目に 20 mm をこえる強い反応を示し、6 週目にもその強さを保った。これに対し INH を投与した II 群では 2 週目以降反応の増強はみられず、6 週目には 3 匹が陰転し、2 匹は不変、残る 2 匹に多少増強がみられた程度で反応の平均値は 11.5 mm であった。

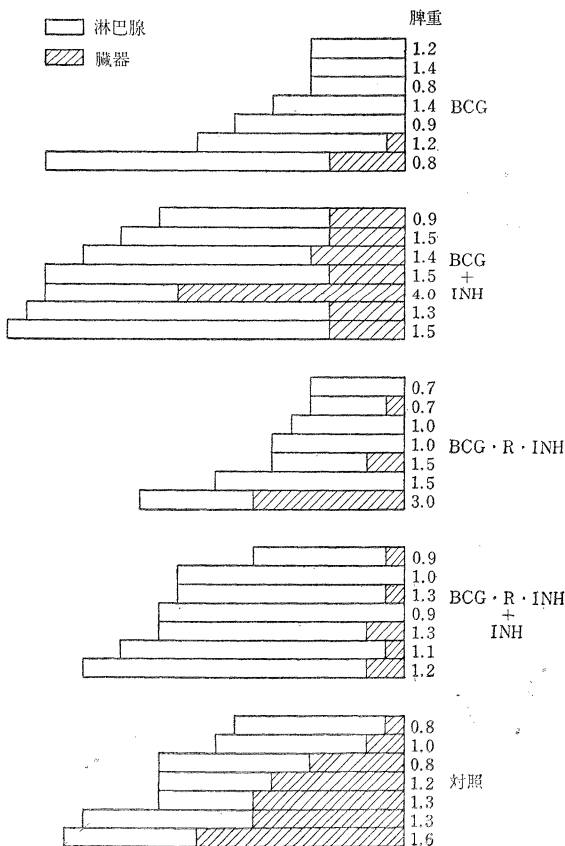
図 1 ツ反応に及ぼす INH 投与の影響



BCG・R・INH 免疫群では INH 投与の有無に関係なく反応は週を追って増強し、6 週目には 18~9 mm の強い反応を示した。

剖検成績：リンパ腺および臓器病変の肉眼的所見をヒストグラムにより図 2 に示した。右側の数字は脾の重量である。

図 2 リンパ腺および臓器病変のヒストグラム



I 群では脾に 2~3 コの結節を認めたもの 2 匹、肺に病変あるもの 1 にすぎず、リンパ腺の変化もきわめて軽かった。これに対し II 群では膝蓋腺はいずれも豌豆大ないしそれ以上でいずれも乾酪化しており、後腹膜腺、門脈腺等も高度に腫脹し、半数に乾酪化がみられる等リンパ腺の変化は著しく強く、内臓も 1 匹を除いていずれも中等度ないし高度に進展しており、対照とほとんど同様の病変であった。

BCG・R・INH 免疫群では III 群中の 1 例に高度に進んだ病変がみられたが、他は両群ともリンパ腺、臓器の病変はきわめて軽く、リンパ腺では IV 群の所見が III 群よりやや強い傾向があるが、臓器の所見では両群とも同程度であった。

定量培養成績：臓器 10 mg 中の生菌数を表 1 に示した。成績はほぼ肉眼的病変所見と併行しており、I 群では 2, 3 の動物から少数の菌を分離したにすぎないが、II 群からは対照同様多数の菌が分離された。これに対し III, IV 群からは前者より 2 匹、後者より 1 匹の脾より 100~200 コの菌が分離されたが、他はきわめて少数であった。また INH 投与群の方が非投与群より分離菌数はやや少ないようであった。

小括：BCG 免疫群は INH 投与の影響が強く、

表1 臓器 10 mg 中の生菌単位数

免疫の種類	臓器	非投与群		投与群	
		脾	肺	脾	肺
BCG 0.5 mg		0.5	0.5	8	147
		0	0	870	0
		0	0	210	C
		26	4	160	0
		0.5	0	2,030	300>
		0	0	760	112
		0	0	590	0
BCG・R・INH 5 mg		118	9	0	2
		193	72	0	0
		59	20	5.5	0
		0.5	0	91	0
		20	0	12	0
		2	0	26	0
		11	0	53	0
対 照 群		44	0		
		130	12		
		130	9		
		720	64		
		8.5	2.0		
		1,300	21		
		520	73		

ツ反応は半数が陰転し、感染防禦力は非常に低下した。これに対し BCG・R・INH 免疫群では INH 投与の影響はみられず、ツ反応も強い反応を示し、感染防禦力も低下しなかった。

総括ならびに考案

本菌株を実用に供しようとする場合、免疫原性とともに関与性も十分に検討されねばならない。そこで生物学製剤基準³⁾にもとづき上述の実験 I を行つた。すなわち皮下 30 mg、静脈内 1 mg (生菌数 15.4×10^5 /mg) の大量を接種したにもかかわらず、肉眼的にはもちろん、病理組織学的検索によつても進行性の病変は認められず、すべて萎縮性で治癒過程のものであることが明らかにされた。これは従来の BCG による組織像と同一のものであり、よつて本菌株はかなり大量接種を行つてもなお安全であるといえよう。

実験 II の成績を検討するに先立ち、INH の投与方法および 1 日の投与量に関する諸家の成績をみると、Karlson は結核モルモットの INH 治療にあたり、投与量は 1 匹あたり 1 日 1 mg と 10 mg の間に差はないとし⁴⁾、北本⁵⁾、岩崎⁶⁾らは 3~5 mg 間に差はないといつている。また感染後 INH 投与までの期間は

2~3 週で、いずれも十分よい成績をあげている。

さて BCG 免疫と INH 投与に関しては、堀はモルモットを BCG 0.1 mg (v.u 23×10^4) で免疫し、1, 4 週後より INH 10 mg を 6~8 週間連続注射し、いずれも BCG 免疫の著明な低下を認め⁷⁾、Canetti はモルモットに BCG 1 mg (接種菌数不明) を接種し、翌日より INH 5 mg を連日 6 週間注射して免疫の低下を報告している⁸⁾。他方前田らはモルモットを BCG 1 mg (v.u 27.6×10^6) で免疫し、2 週後より INH 4 mg を連日 4 週間経口投与を行つたが、非投与群との間に差はみられなかつたと報告し⁹⁾、豊原らもほぼ同様の条件下に実験を行い、2 週後より INH を投与した群の免疫は低下しない¹⁰⁾と報告している。また Bloch はマウスを用い、BCG 5×10^6 で免疫し、翌日より INH 4 mg を連日注射すると免疫は著明に低下するが、3 日後よりの投与では免疫は低下しないといつている¹¹⁾。

以上の諸報告よりすると、INH の 1 日の投与量、または免疫後投与までの期間も重要であるが、免疫に用いた BCG の菌数が結果をもつとも左右する因子であろうと考えられる。

そこで実験 II では免疫は 0.5 mg (v.u 7.2×10^5) 程度中等量によつて行い、INH はその効果を期するため免疫の翌日より 1 日 1 匹あたり 10 mg を皮下注射する方法をとつた。

成績を総括すると、BCG 免疫群は INH 投与の著しい影響をうけた。すなわち INH 投与群のツ反応は半数が陰転し、他の動物も 11~12 mm の弱い反応で、病変も対照同様に高度に進展し、臓器内生菌数も対照同様多数であつた。これに対し非投与群ではツ反応は 4 週で 20 mm をこえる強い反応を示し、感染防禦力も毎常みるごとき良好な成績を示した。

BCG・R・INH 免疫群では上述の諸検査成績は両群ともにほぼ同様であつた。すなわちツ反応は 18~19 mm の強い反応を示し、剖検所見、培養成績は I 群に比べやや劣るようであるが、II 群に比べはるかに良好な成績であつた。

したがつて BCG 免疫後早急に INH の予防内服を行う必要がある場合、感性 BCG は INH により免疫効果は著しく阻害されるが、本菌株を用いれば、免疫効果を保ちつつかつ予防内服の目的を達しうるものと思われる。

ただ実験 II では BCG・R・INH の接種菌数は BCG の約 10 倍であり、攻撃菌数は H_2 株 4×10^4 とかなり少数を用いた。Canetti⁸⁾、Schaefer¹²⁾らの成績にもみられるごとくこの程度の攻撃に対しては本菌株も十分にその力を発揮するといえよう。しかし III 群中 1 匹であるが高度に進展した病変が認められたことは、

前報告でも述べたように本菌株の菌力の弱きにもとづくものと思われ、本菌株による免疫に多少の不安が感ぜられる。

結 論

INH 100 γ/ml 耐性 BCG の安全性を確かめ、かつ INH 早期投与が本菌株による免疫に及ぼす影響を調べて次の結果を得た。

- 1) 本菌株の毒力はきわめて弱く、 46.2×10^6 程度の大量接種によつても動物に進行性病変を作らない。
- 2) 感性 BCG は INH 投与により著しい影響をうけ、感染防禦力は著しく低下した。
- 3) INH 100 γ/ml 耐性 BCG は INH 投与の影響をうけず、したがって感染防禦力は阻害されなかつた。
- 4) 本実験のごとく攻撃菌数が少数であれば本菌株は相当の感染防禦力を示す。

稿を終るに臨み御指導、御校閲を戴いた柳沢副所長、室橋部長に感謝します。また病理組織の検索を戴いた病

理部小川博士に感謝します。

参 考 文 献

- 1) 長田進：結核，33：769，昭33.
- 2) 長田進：結核，34：7，昭34.
- 3) 生物学的製剤基準，厚生省，昭33.
- 4) Karlson A.G. et al. : Am. Rev. Tuberc., 68 : 75, 1952.
- 5) 北本治 他：日本臨牀結核，11：408，昭27.
- 6) 岩崎龍郎 他：日本臨牀結核，11：430，昭27.
- 7) 堀三津夫 他：文部省結核研究班化学療法科会，昭和28年度報告.
- 8) Canetti G. et al. : Annales de l'institut Pasteur, 92 : 441, 1957.
- 9) 前田道明 他：結核の臨牀，3：321，昭30.
- 10) 豊原希一 他：日本細菌学雑誌，13：1134，昭33.
- 11) Bloch H. et al. : Am. Rev. Tuberc., 71 : 228, 1955.
- 12) Schaefer, W.B. et al. : Am. Rev. Tuberc., 75 : 650, 1957.