

ツベルクリン反応陽性の個体に対する BCG の接種

第 1 報 塗擦法あるいは乱切法による動物実験

齋 藤 秀 夫

弘前大学医学部第二内科学教室 (主任 大池彌三郎教授)

受 付 昭和 34 年 7 月 23 日

緒 言

BCG の接種は、ツベルクリン反応 (以下 ツ反応と略) 陰性の者および疑陽性の者に対して、普通年 1 回行なわれている。この場合、BCG の接種によつて、たとえ一たんツ反応が陽転したとしても 1 年後には多くの陰転者をみる現状である。したがつてツベルクリンアレルギーを絶えまなく長期間持続するためには、BCG を頻繁に反復接種することが望ましい。それには接種の都度ツ反応を頻繁に検査しなければならず煩瑣にたえない。それで、もしツ反応の陰性、陽性を顧慮せずに BCG を接種することができればなほは都合である。しかし BCG を接種してツ反応の陽転しているものにさらに重ねて BCG を接種した場合には、BCG 接種の副作用が問題になる。一般に BCG の皮内接種法では経皮接種法に比して、局所副作用が強く、とくにツ反応陽性のものに皮内接種した場合に、その副作用に悩まされることはよく知られている。

そこで私は今回、局所副作用が比較的少ないとされている経皮接種法のうちの塗擦法¹⁾ および乱切法によつて、ツ反応の陰陽にかかわらず海獺に BCG を反復接種し、その局所の副作用、ツ反応の推移および結核免疫の程度について攻究した。

実 験 方 法

1) BCG ワクチンの調製

Sauton 培地に 20 日間培養の BCG を用いて種々のワクチンを作つた。

i. 塗擦用ワクチンの調製

瑪瑙乳鉢に十分水分を除去した BCG をとり、これにピロカルピンおよびヒアルロニダーゼの生理的食塩水溶液を混和し、これにカーボワックスあるいは親水軟膏を混じ、あるいはさらに白砂を混じて次の 2 種の BCG ワクチンを作つた。

ここにいうカーボワックスとは、カーボワックス 4,000 とカーボワックス 1,500 とを 2:1 の割合に混じて、ある程度柔かさを保たせたものである。

イ) 40% 白砂・2% ピロカルピン・1,000 単位ヒ

アルロニダーゼ・カーボワックス・80 mg BCG。

ロ) 2% ピロカルピン・1,000 単位 ヒアルロニダーゼ・親水軟膏・80 mg BCG。

ii. 乱切用ワクチンの調製

瑪瑙乳鉢で BCG と生理的食塩水とを混和して作り、あるいはピロカルピンおよびヒアルロニダーゼを加えて、次の 2 種の BCG ワクチンを作つた。

イ) 生理的食塩水・80 mg BCG。

ロ) 2% ピロカルピン・1,000 単位 ヒアルロニダーゼ・80 mg BCG。

2) 接種方法

ツ反応 (1:10, 24 時間) 陰性の海獺 42 頭を 6 群に分ち、各群を 7 頭とした。第 1 群、第 2 群および第 3 群を反復接種群として、12 週ごとにツ反応の陰性、陽性にかかわらず BCG を反復接種した。第 4 群および第 5 群は 1 回接種群とした。第 6 群は対照とし、BCG を接種しなかつた。

第 1 群には生理的食塩水・80 mg BCG を反復乱切接種し、第 2 群には 40% 白砂・2% ピロカルピン・1,000 単位ヒアルロニダーゼ・カーボワックス・80 mg BCG を反復塗擦接種し、第 3 群には初回に、2% ピロカルピン・1,000 単位ヒアルロニダーゼ・生理的食塩水・80 mg BCG を乱切接種し、第 2 回および第 3 回目には 40% 白砂・2% ピロカルピン・1,000 単位ヒアルロニダーゼ・カーボワックス・80 mg BCG を反復塗擦接種した。

第 4 群には 2% ピロカルピン・1,000 単位ヒアルロニダーゼ・生理的食塩水・80 mg BCG を 1 回だけ乱切接種し、第 5 群には 2% ピロカルピン・1,000 単位ヒアルロニダーゼ・親水軟膏・80 mg BCG を 1 回だけ塗擦接種した。

塗擦接種においては、海獺の腹部の毛を鋏で皮膚を傷つけないようになるべく短く刈りとり、そこに上記ワクチンの 1 つを約 0.05 g 塗布し、われわれの示指の腹で 100 回宛皮膚に擦りこみ、直径約 2 cm の広さに塗擦接種した。

乱切接種においては、塗擦接種の場合と同様に海獺の毛を刈りとり、上記乱切用 BCG ワクチンの 1 つを用

いて、一切約 1 cm の長さに 1 カ所十字切りして乱切接種した。

3) 有毒人型結核菌の接種

BCG 接種後、接種局所の変化、ツ反応 および体重の推移等を 36 週間観察したのち、岡・片倉培地に 21 日間培養した有毒人型結核菌の 1/100 mg 浮游液 0.1 cc を海鯨の右大腿部内側に皮下接種した。さらに接種局所の変化、ツ反応および体重の推移等を観察し、人型菌接種 12 週後に撲殺剖検して、各群間の病変の程度を肺、肝臓、脾臓、淋巴腺および人型菌接種局所等について、肉眼的変化、病理組織学的変化および各臓器の結核菌培養成績等の諸点から比較検討した。

全経過を通じてツ反応 (1:10, 24 時間) は 1 週間ごとに 1 回行なわれた。

なお本実験に使用した BCG および有毒人型結核菌はいずれも生菌単位数検定基準に合格していたものである。

実験成績

I. BCG 接種による局所副作用、ツ反応の推移、体重の変化等について

1) 局所の副作用

i. 初回接種の場合

全群を通じて、乱切接種法 (第 1 群; 第 3 群および第 4 群) ではほとんど全例に始めは軽度の発赤・腫脹をみ、2 週後には十字型の痂皮形成を認め、4 週後では約半数に十字型の痂痕がみられた。

塗擦接種法 (第 2 群および第 5 群) では接種当初、局所の発赤・腫脹が、10 日後には薄い痂皮形成が数日間みられたが、4 週後にはほとんど痕跡を残さずに治癒し、局所副作用は乱切法に比し明らかに軽度であった。

ii. 反復接種の場合

第 2 回および第 3 回目の反復接種の局所の変化としては、乱切接種法 (第 1 群) では初回接種の場合とほとんど同様の局所反応の推移をみた。とくに初回接種に比して局所の変化が強いとはいえないかった。

塗擦接種法 (第 2 群および第 3 群) では、塗擦初回接種の場合と全く同様な軽度の局所の変化をみた。ただし第 3 群では初回は乱切法である。

2) ツ反応の推移 (表 1)

第 1 群の乱切接種では 2 週後に陽転しはじめ、4 週後には 6 例中 4 例陽転し、8 週後では全例が陽転した。

第 2 群の塗擦接種では 4 週後に 7 例中 4 例が疑陽性となり、12 週後には 7 例中 3 例が陽転したにすぎなくここで再接種が行なわれた。初回接種から 20 週後には全例が陽転した。

第 3 群の乱切・塗擦・塗擦接種では初回の乱切 4 週後に全例が陽転した。

第 4 群の乱切接種では第 3 群と同様に 4 週後には全例が陽転した。

第 5 群の塗擦接種では 4 週後には 7 例中 1 例が陽転し、3 例が疑陽性であった。18 週後には 7 例中 6 例が陽転した。1 例は人型菌接種直前まで疑陽性であった。

ツ反応の大きさの平均値は表 1 に示すようである。2 週後においては乱切の第 3 群と第 4 群では乱切の第 1 群および塗擦の第 2 群、第 5 群よりツベルクリンアレルギーが強く (第 1 群と第 4 群との間では $F_0 = 6.61 > F'_{11}$ (0.05) = 4.84, 第 4 群と第 5 群との間では $F_0 = 21.46 > F'_{12}$ (0.05) = 4.75), 4 週後においては乱切の第 3 群、第 4 群では塗擦の第 2 群、第 5 群より強かつた (第 3 群と第 5 群との間では $F_0 = 18.54 > F'_{10}$ (0.05) = 4.96)。また乱切の第 1 群では塗擦の第 2 群より強かつた ($F_0 = 9.61 > F'_{11}$ (0.05) = 4.84)。6 週後においては乱切の第 1 群、第 3 群、第 4 群が塗擦の第 2 群、第 5 群より強く (第 1 群と第 5 群との間では $F_0 = 6.85 > F'_{11}$ (0.05) = 4.84), 8 週後では乱切の第 3 群、第 4 群が塗擦の第 2 群、第 5 群より強く (第 4 群と第 5 群との間では $F_0 = 7.36 > F'_{11}$ (0.05) = 4.84)。10 週後では乱切の第 1 群、第 3 群、第 4 群が塗擦の第 2 群、第 5 群より強く (第 1 群と第 5 群との間では $F_0 = 5.77 > F'_{11}$ (0.05) = 4.84), 12 週後では乱切の第 1 群、第 3 群が塗擦の第 2 群、第 5 群より強かつた (第 1 群と第 5 群の間では $F_0 = 4.85 > F'_{11}$ (0.05) = 4.84)。この 12 週後のツ反応検査の直後に、第 1、第 2 および第 3 群はそれぞれの BCG ワクチンの再接種を受けたのであるが、14 週後では乱切の第 1 群、第 3 群、第 4 群が塗擦の第 2 群より強く (第 2 群と第 3 群との間では $F_0 = 5.84 > F'_9$ (0.05) = 5.12), 16 週後では第 3 群、第 4 群が第 5 群より強く (第 3 群と第 5 群との間では $F_0 = 5.83 > F'_{10}$ (0.05) = 4.96), 18 週後から 36 週まででは各群間に差は見当たらなかった。その間 24 週の時期において第 1、第 2 および第 3 群ではそれぞれ BCG ワクチンの再接種が行なわれた。

3) 体重の変化

BCG 接種後 36 週の間には各群の平均体重はいずれも 120~194 g 増加したが、各群間に推計学上の差は見当たらなかった。

II. 有毒人型結核菌接種による免疫効果の判定

1) 人型結核菌接種局所の変化

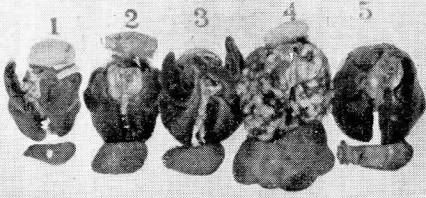
ほとんど全例において人型菌接種局所に硬結、浸潤がみられたが、対照群と BCG 接種群との間、あるいは乱切群と塗擦群あるいは反復接種群と 1 回接種群との間には人型菌接種に対する局所防禦能の差はみられなかった。

2) ツ反応の推移 (表 2)

人型菌接種 2 週後には対照群もツ反応が全例陽転し、

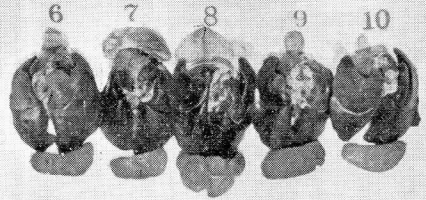
乱切 3 回
食塩水・80

第一群



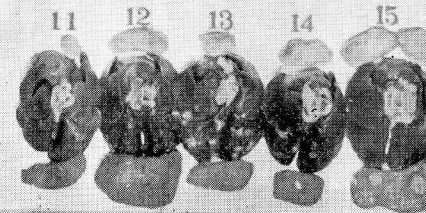
塗擦 3 回
40白・2ピ・
1,000ヒ・
カ・80

第二群

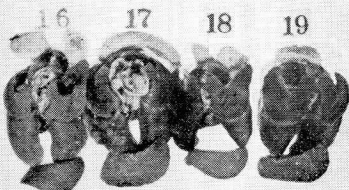


乱切・塗擦
・塗擦
・2ピ・
1,000ヒ・
食塩水・80
・40白・2ピ・
1,000ヒ・
カ・80

第三群



第四群



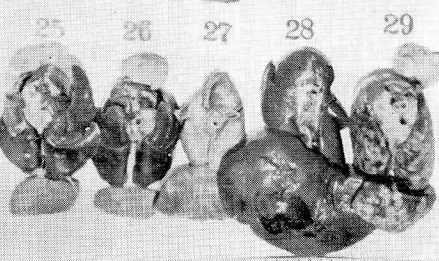
乱切
2ピ・
1,000ヒ・
食塩水・80

第五群



塗擦
2ピ・
1,000ヒ・
親・80

第六群



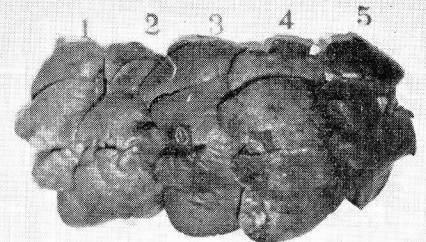
対 照

肝

臓

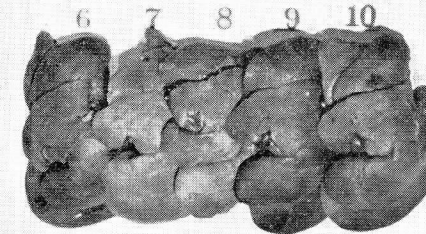
乱切 3 回
食塩水・80

第一群



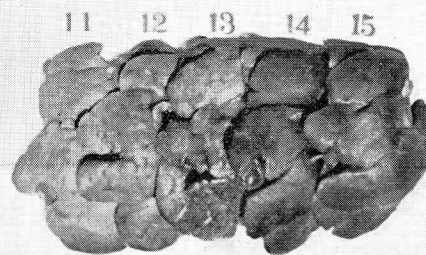
塗擦 3 回
40白・2ピ・
1,000ヒ・
カ・80

第二群



乱切・塗擦
・塗擦
・2ピ・
1,000ヒ・
食塩水・80
・40白・2ピ・
1,000ヒ・
カ・80

第三群

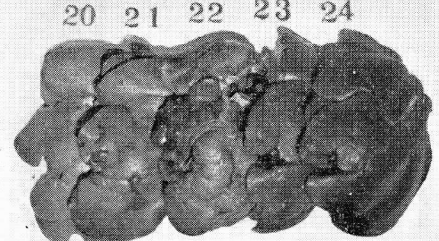


第四群



乱切
2ピ・
1,000ヒ・
食塩水・80

第五群



塗擦
2ピ・
1,000ヒ・
親・80

第六群



対 照

表 1 BCG接種によるツ反応の大きさの平均値 (mm)
[12 週および 24 週後に BCG を反復接種]

接種方法		経 過	接種 直前	接種 2 週後	4 週後	6 週後	8 週後	10 週後	12 週後	14 週後	16 週後	18 週後	20 週後	22 週後	24 週後	26 週後	28 週後	30 週後	32 週後	34 週後	36 週後
反 復 接 種	第 1 群	乱切 3 回 食塩水・80	2.3	7.1	9.8	11.4	12.1	13.8	13.8	14.2	13.6	13.3	14.1	14.5	14.2	14.1	15.0	14.8	14.9	15.3	14.5
	第 2 群	塗擦 3 回 40白・2ピ・1,000 ヒ・カ・80	2.6	4.4	4.5	5.3	8.1	7.6	9.4	9.3	11.8	11.6	10.8	12.5	13.7	13.6	13.7	13.8	14.3	18.0	14.7
	第 3 群	乱切・塗擦・塗擦 ・2ピ・1,000ヒ・ 食塩水・80 ・40白・2ピ・ 1,000ヒ・カ・80	2.4	12.6	11.6	14.0	15.6	15.2	14.0	14.0	14.8	15.7	15.7	15.3	15.1	15.0	15.4	15.5	16.3	16.4	15.6
1 回 接 種	第 4 群	乱 切 2ピ・1,000ヒ・ 食塩水・80	2.2	12.5	13.1	13.6	13.7	14.5	13.0	14.1	15.8	15.6	15.8	15.9	14.8	15.7	15.8	13.9	14.1	14.0	13.9
	第 5 群	塗 擦 2ピ・1,000ヒ・ 親・80	2.0	5.3	5.7	7.1	9.1	9.2	9.7	10.6	10.2	11.4	11.5	11.3	11.9	13.0	12.5	12.7	12.5	13.7	14.5
対 照			2.0	1.9	2.1	1.8	2.4	2.5	2.8	2.3	3.2	3.1	3.3	3.3	3.2	3.4	3.1	3.7	3.6	3.3	3.4

注：40…40%，白…白砂，2…2%，ピ…ピロカルピン，1,000…1,000単位，ヒ…ヒアルロニダーゼ，カ…カーボワックス，親…親水軟膏

表 2 人型菌接種によるツ反応の大きさの平均値 (mm)

接種方法		経 過	接種 直前	接種 2 週後	4 週後	6 週後	8 週後	10 週後	12 週後
反 復 接 種	第 1 群	乱切 3 回	14.5	15.3	15.2	16.1	17.5	17.8	17.8
	第 2 群	塗擦 3 回	14.7	17.5	17.6	16.7	17.4	18.3	17.9
	第 3 群	乱切・塗擦・塗擦	15.6	17.2	16.0	17.0	19.4	19.8	21.6
1 接 回種	第 4 群	乱切	13.9	15.6	17.0	17.6	17.6	17.1	17.0
	第 5 群	塗擦	14.5	14.6	15.9	18.4	21.0	21.2	20.4
対 照			3.4	14.8	16.7	22.0	24.2	23.9	24.6

以後各群ともツ反応の発赤の平均値が次第に増大した。各群のツ反応の大きさについては 8 週後までは BCG 接種群の相互間には差は見当たらなかった。しかし 10 週後では第 5 群では第 4 群よりツ反応の大きさが大であったが ($F_0=12.16 > F_{\gamma}(0.05)=5.59$)、12 週後では各群間に差はみられなかった。

3) 体重の変化

人型菌接種直前から採疫直前にかけての体重の増減については、各群とも 24~60 g 増加した。BCG 接種群と対照群との間には体重増減の差を認めなかった。また BCG の接種方法の異なる各群間にも増減の差を認めなかった。

4) 剖検時の肉眼的変化 (表 3 M 欄)

i. 淋巴腺および接種局所

各群の所属淋巴腺は小豆大から豌豆大の腫大を認めた

が、対照群、BCG 接種各群間に程度の差はみられなかった。

人型菌接種局所の変化については、前述のように対照群と BCG 接種群との間、あるいは BCG 接種各群の間にはその程度の差はみられなかった。

ii. 肺

肺においては各群とも相当に結核結節を認めたが、BCG 接種の各群間ではその程度に差はみられなかった。対照群では全例に結節を認め BCG 接種群に比して明らかに多かつた。

iii. 肝臓

第 1 群および第 2 群においては結節を認めたものはそれぞれ 5 例中 1 例であつたのに対し、第 3 群および第 5 群では比較的多くの例に結節を認めた。対照群では全例に結節を認めた。

iv. 脾臓

各群とも相当に結節を認めたが BCG 接種の各群間では程度に差はみられなかった。対照群では全例に結節を認め BCG 接種群に比して明らかに多かつた。

各群の平均脾重量および体重 100 g に対する脾重比は、第 1 群 0.73 g および 0.12、第 2 群 0.93 g および 0.13、第 3 群 2.16 g および 0.29、第 4 群 1.15 g および 0.16、第 5 群 1.33 g および 0.19、対照群 4.81 g および 0.69 であつた。

なお第 1 群において脾重 6.4 g、第 2 群において 3.1 g、第 5 群において 2.6 g、対照群において 41.5 g を示したものは、Thompson の棄却検定法に従つて除外してから平均値を算出した。

表 3 剖 検 所 見 総 括

接種方法				病 変			肺			肝 臓			脾 臓			淋 巴 腺	脾 重	脾重平均 脾体重比
				M	m	C	M	m	C	M	m	C						
反	第 1 群	乱 切 3 回 食塩水・80	1	-	+	0	-	+	0	-	+	0	+	0.5	0.73 g 0.12			
			2	+	+	26	-	+	0	+	+	18	+	0.8				
			3	-	+	0	-	+	0	-	+	0	+	0.8				
			4	+	+	96	+	+	6	+	+	41	+	(6.4)				
			5	-	+	0	-	+	0	+	+	0	+	0.8				
復	第 2 群	塗 擦 3 回 40白・2ピ・ 1,000ヒ・ カ・80	6	-	+	0	-	+	0	-	+	0	+	1.1	0.93 g 0.13			
			7	+	+	0	-	+	0	+	+	0	+	1.0				
			8	+	+	31	+	+	5	+	+	142	+	(3.1)				
			9	-	+	0	-	+	0	-	+	0	+	0.8				
			10	-	+	0	-	+	0	-	+	0	+	0.8				
種	第 3 群	乱切・塗擦・塗擦 ・2ピ・1,000ヒ・ 食塩水・80 ・40白・2ピ・ 1,000ヒ・ カ・80	11	-	+	0	+	+	0	-	+	5	+	0.8	2.16 g 0.29			
			12	+	+	100	+	+	15	+	+	31	+	4.8				
			13	+	+	36	+	+	0	±	+	0	+	0.6				
			14	+	+	0	-	+	0	-	+	0	+	0.9				
			15	+	+	0	+	+	0	+	+	30	+	3.7				
1 回	第 4 群	乱 切 2ピ・1,000ヒ・ 食塩水・80	16	-	+	0	-	+	0	-	+	0	+	0.9	1.15 g 0.16			
			17	+	+	48	+	+	2	+	+	59	+	1.9				
			18	+	+	6	-	+	0	-	+	9	+	1.0				
			19	-	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0.8				
接 種	第 5 群	塗 擦 2ピ・1,000ヒ・ 親・80	20	-	+	18	+	+	4	-	+	15	+	1.3	1.33 g 0.19			
			21	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	1.4				
			22	+	+	54	+	+	4	+	+	24	+	(2.6)				
			23	+	+	0	+	+	0	+	+	7	+	1.6				
			24	-	+	0	-	+	0	+	+	0	+	1.0				
対 照			25	+	+	40	+	+	24	+	+	30	+	1.4	4.81 g 0.69			
			26	+	+	52	+	+	6	+	+	28	+	0.8				
			27	+	+	100	+	+	56	+	+	+	+	9.5				
			28	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(41.5)				
			29	+	+	+	+	+	34	+	+	50	+	7.6				

5) 各臓器の病理組織学的変化 (表3の m 欄および表4, 5, 6)

各海狸の組織学的変化は肺にもつとも著しく、ついで脾臓、肝臓の順であった。

i. 肺 (表4)

円形細胞浸潤、結節、壊死、好中球の増加、浮腫、出血、肺炎性組織変化、結核菌の有無等を検索した。

BCG 接種群の結節は対照群に比して明らかに少なかった。反復接種群と1回接種群との間では結節の多少に差は見当たらなかった。

乾酪壊死は第2群には認められなく、他の BCG 接種の各群にはそれぞれ1例において認められたが、対照群では5例中4例に認められた。

円形細胞浸潤、好中球増加、浮腫、肺炎性変化等は、

BCG 接種群の各群間においてほとんど同程度に認められた。

対照群ではこれらの病変は浮腫を除いては BCG 接種群に比して明らかに高度であった。

出血は反復接種群においては1回接種群に比べてやや強かった。

結核菌は第1, 第3および第5群のそれぞれ1例において染色^{2)~4)}され、対照群では2例において染色された。

ii. 肝臓 (表5)

結核結節は、BCG 接種群では第1群の1例、第2群の2例、第3群の2例、第4群の1例、第5群の3例において認められた。対照群では全例に認められた。反復接種群と1回接種群との間には結節の多少に差は見当たらなかった。

表4 病理組織学的所見

			肺								
接種方法			病変	円形細胞浸潤	結節	乾酪壊死	好中球	浮腫	出血	肺炎性変化	結核菌
反	第1群	乱切3回 食塩水・80	1	+	-	-	+	+	+	+	-
			2	-	+	-	±	+	+	+	+
			3	+	-	-	±	±	+	+	-
			4	+	+	+	-	+	-	+	-
			5	±	-	-	-	+	+	+	-
復	第2群	塗擦3回 40白・2ピ・ 1,000ヒ・カ・ 80	6	+	+	-	±	+	+	+	-
			7	+	+	-	+	+	+	+	-
			8	+	+	-	-	+	+	+	-
			9	+	-	-	-	+	+	+	-
			10	+	+	-	±	+	+	+	-
種	第3群	乱切・塗擦・塗擦 ・2ピ・1,000ヒ・ 食塩水・80 ・40白・2ピ・ 1,000ヒ・ カ・80	11	+	±	-	+	+	+	+	-
			12	+	+	+	+	+	+	+	+
			13	+	+	-	-	+	+	±	-
			14	+	±	-	±	+	+	±	-
			15	+	+	-	±	+	+	+	-
1 回	第4群	乱切 2ピ・1,000ヒ・ 食塩水・80	16	+	+	+	+	+	+	+	-
			17	+	+	-	-	+	+	+	-
			18	+	+	-	+	+	+	+	-
			19	+	-	-	+	+	+	+	-
接 種	第5群	塗擦 2ピ・1,000ヒ・ 親・80	20	+	±	-	±	+	+	+	+
			21	+	+	-	±	+	+	+	-
			22	+	+	-	-	-	+	+	-
			23	-	-	-	-	+	-	-	-
			24	+	+	±	±	+	+	+	-
対 照			25	+	+	-	±	+	+	+	-
			26	+	+	+	+	+	+	+	-
			27	+	+	+	±	+	+	+	-
			28	+	+	+	+	+	+	+	+
			29	+	+	+	+	+	+	+	+

乾酪壊死は BCG 接種の全例に認められなかったが、対照群では全例に認められた。

円形細胞浸潤、好中球の増加、浮腫、鬱血等は、反復接種群と1回接種群との間では明らかに差は見当たらなかった。しかし円形細胞の浸潤は第1群に少なく、また好中球の増加は第1群、第2群には全く見当たらなかった。これらの病変のうち円形細胞浸潤および好中球の増加は対照群ではBCG接種群に比し、高度であった。結核菌は第3群の1例、対照群の1例にそれぞれ染色された。

iii. 脾臓 (表6)

結核結節は BCG 接種の各群において同程度に認められたが、反復接種群と1回接種群との間では結節の多少に差は見当たらなかった。

乾酪壊死は BCG 接種群の第2群、第3群、第4群のそれぞれ1例ずつに認められた。対照群では5例中4例に認められ BCG 接種群に比して明らかに高度であった。

円形細胞浸潤、好中球の増加、鬱血等は BCG 接種群では同程度に認められたが、浮腫は第1群、第5群においてやや強かった。これらの病変は対照群では鬱血を除き一般に高度であった。

結核菌は BCG 接種群のうち、第3群の他の各群にそれぞれ1例ずつにおいて、対照群では2例において染色された。第3群では全く染色されなかった。

6) 結核菌分離培養成績 (表3C欄)

各臓器からの結核菌の分離培養にさいしては、なるべ

表 5 病理組織学的所見

		肝		臓						
		病 変	円胞 形浸 潤	結 節	乾 壞 酪死	好中 球	浮 腫	鬱 血	結 核 菌	
接種方法										
反	第 1 群	乱切3回 食塩水・80	1	-	-	-	-	+	+	-
			2	+	±	-	-	+	+	-
			3	-	-	-	-	+	+	-
			4	-	-	-	-	+	+	-
			5	±	-	-	-	+	+	-
復	第 2 群	塗擦3回 40白・2ビ・ 1,000ヒ・ カ・80	6	+	+	-	-	+	+	-
			7	+	±	-	-	+	+	-
			8	+	-	-	-	+	+	-
			9	±	-	-	-	+	+	-
			10	±	-	-	-	+	+	-
種	第 3 群	乱切・塗擦・塗 擦・2ビ・1,000 ヒ・食塩水・80 ・40白・2ビ・ 1,000ヒ・ カ・80	11	+	+	-	±	+	+	-
			12	+	+	-	±	+	+	+
			13	+	-	-	-	+	+	-
			14	+	-	-	-	+	+	-
			15	+	-	-	-	+	+	-
回	第 4 群	乱 切 2ビ・1,000ヒ ・食塩水・80	16	+	+	-	-	+	+	-
			17	+	-	-	+	+	+	-
			18	+	-	-	-	+	+	-
			19	+	-	-	-	+	+	-
			接	第 5 群	塗 擦 2ビ・1,000ヒ ・親・80	20	±	±	-	-
21	+	+				-	-	+	+	-
22	+	+				-	-	+	+	-
23	+	-				-	-	+	+	-
24	+	-				-	-	+	+	-
対	照		25	+	+	±	±	+	+	-
			26	+	+	±	+	+	+	-
			27	+	+	±	+	+	+	-
			28	+	+	+	±	+	+	+
			29	+	+	+	-	+	+	-

く肉眼的に変化のみられた個所を無菌的に一定量を切りとり、磨砕の上硫酸処置を行ない岡・片倉培地に定量培養し、約2ヵ月後に聚落数を数えた。

i. 肺

BCG 接種群では第1群の2例、第2群の1例、第3、第4および第5群のそれぞれ2例において陽性であり、対照群では全例において陽性であった。

ii. 肝臓

BCG 接種群では第1、第2、第3および第4群のそれぞれ1例に陽性であり、第5群の2例に陽性であったが、対照群では全例に陽性であった。

iii. 脾臓

BCG 接種群では第1群の2例、第2群の1例、第

表 6 病理組織学的所見

		脾				臓				
		病 変	円胞 形浸 細潤	結 節	乾 壞 酪死	好中 球	浮 腫	鬱 血	結 核 菌	
接種方法										
反	第1群	乱切3回 食塩水・80	1	-	-	-	-	+	+	-
			2	+	+	-	-	+	+	-
			3	+	+	-	-	+	+	-
			4	+	+	-	-	+	+	+
			5	+	±	-	±	+	+	-
復	第2群	塗擦3回 40白・2ビ・ 1,000ヒ・ カ・80	6	+	-	-	-	+	+	-
			7	+	+	+	+	+	+	-
			8	+	+	-	-	±	+	+
			9	+	±	-	-	-	+	-
			10	+	±	-	-	-	+	-
種	第3群	乱切・塗擦・塗 擦・2ビ・1,000 ヒ・食塩水・80 ・40白・2ビ・ 1,000ヒ・ カ・80	11	+	+	-	±	-	+	-
			12	+	+	-	-	-	+	-
			13	-	-	-	-	±	+	-
			14	+	+	+	+	+	+	-
			15	+	±	-	-	+	+	-
回	第4群	乱 切 2ビ・1,000ヒ ・食塩水・80	16	+	±	-	-	-	+	-
			17	+	+	+	-	-	+	+
			18	+	+	-	-	-	+	-
			19	+	-	-	±	±	+	-
			20	+	+	-	-	±	+	-
接	第5群	塗 擦 2ビ・1,000ヒ ・親・80	21	+	+	-	+	+	+	-
			22	+	-	-	-	+	+	+
			23	+	+	-	±	+	+	-
			24	+	±	-	±	+	+	-
			25	+	+	-	+	±	+	-
対	照		26	+	+	+	+	+	+	-
			27	+	+	+	+	+	+	+
			28	+	+	+	+	+	+	+
			29	+	+	+	+	+	+	-
			30	+	+	+	+	+	+	-

3群の3例、第4群の2例、第5群の3例に陽性であったが、対照群では全例において陽性であった。

すなわち結核菌の培養陽性率は BCG 接種群においては対照群に比して低かったが、BCG の反復接種群と1回接種群との間では差を認めなかった。

総 括・考 案

ツ反応陽性のものに BCG を接種しても副作用がないのであれば、われわれは BCG の接種に先だつて行なわれるツ反応の検査を省略することもできるわけである。すなわちツ反応を行ないその陰性者を選びだして BCG を接種することの代りに、ツ反応を行なうことなしに無選択的に BCG を接種するのであれば、手数

をはぶくことができるであろう。またこの場合にはツ反応が陰転する前にさらに BCG を接種するのであるから、ツ反応を絶えまなく陽性に持続させることが可能になり、BCG 接種の目的に一層ということになる。

私はかような考えから、BCG 接種によつてツ反応の陽転した海狸にさらに重ねて BCG を接種し、接種局所の副作用、ツ反応の推移、結核免疫の状態等について観察した。

BCG 接種群のうち第1群を除き、他の4群に使用された BCG ワクチンには、ヒアルロニダーゼおよびピロカルピンを混和してある。ヒアルロニダーゼは拡散作用があり、ピロカルピンは血管拡張作用がある。したがつて BCG ワクチンにこれらを加えると、より多くの BCG が接種局所から体内に入りうると考えたので使用してみた。

BCG を接種した局所の副作用については、ワクチンの種類に関係なしに、乱切法では4週後にも約半数に癰痕を認めたのに対し、塗擦法では BCG 接種当初には局所の発赤・腫脹を、10日後には薄い痂皮形成を認め、4週後では痕跡を残さずに治癒し、明らかに乱切法に比して軽度であつた。

私の塗擦法、乱切法に関するこの実験では、BCG ワクチンにヒアルロニダーゼとピロカルピンが入つてもその接種局所の副作用が強くなることはなかつた。

しかし海老名ら⁵⁾は海狸に BCG を皮下接種のさい、ヒアルロニダーゼを BCG ワクチンに添加した群では、ヒアルロニダーゼを添加しなかつた群に比し局所の副作用が強かつたと述べている。また矢島⁶⁾は家兎における BCG 皮下接種の実験で同様な結果を得ている。

かように相反した報告があるが、これは私の場合には経皮接種法であり、他の場合には皮下接種法であるところに原因があると思われる。ただし私の場合にはヒアルロニダーゼばかりでなくてピロカルピンも添加されているので、一応ピロカルピン添加のために局所におけるヒアルロニダーゼの副作用が軽減されたのであるとも考えられるが、ピロカルピンは本来充血をきたす作用があるので、むしろ副作用を増大するものと考えられる。したがつて前述のように経皮接種法においてはヒアルロニダーゼによる局所副作用の増大はみられないといえるであろう。

ツ反応の大きさないし陽転率については、BCG を1回だけ接種して12週まで観察したところでは乱切法は塗擦法よりも優れていた。また同じ乱切法であつてもその使用したワクチンにピロカルピンとヒアルロニダーゼとを混和してあるものでは、ツベルクリンアレルギーががいて強かつた。塗擦法においてカーボワックスあるいは親水軟膏を用いてワクチンを作つてみても、ツ反応の大きさには両者間に差は見当たらなかつた。

BCG 初回接種12週後と24週後とに、その個体におけるツ反応の陰陽にかかわらず、ある海狸群では BCG の再接種が反復された。局所の副作用は初接種のさいと同様に軽微であり、ツ反応陽性の個体にかようにさらに BCG を接種しても局所副作用の強くなることはなかつた。

益子⁷⁾によれば、天竺鼠に BCG を皮内接種してツ反応の陽性になつたものにさらに BCG を皮内に再接種すると初接種のときよりも局所の副作用が強かつたという。私の実験では皮内法でなくて経皮接種法であつたためか、上述のように局所副作用は問題にならなかつた。

BCG の反復再接種後にはツ反応は一般に次第に増大の傾向を示した。しかし1回接種だけの海狸群においても接種12週以後でも同様に増大の傾向を示した。

ツ反応は BCG の初接種から18週以後では1回接種あるいは反復接種、または乱切法あるいは塗擦法、またはワクチンの相違等には関係なしに相似た大きさを示した。

ツ反応の早期陽転の面から考えるならば乱切法は塗擦法よりも優れている。したがつて反復接種の場合にはまず乱切法によつて初回接種し、以後は塗擦法によつて反復接種することもよい。乱切法における局所副作用は一般に軽微であるが、塗擦法ではさらに軽微だからである。

BCG の初接種から36週後に有毒人型結核菌が全海狸に感染させられた。それから局所の副作用、ツ反応等を観察して12週後に撲殺した。

人型菌接種局所の副作用については、BCG の反復接種あるいは1回接種、または用いたワクチンの相違等による差異は見当たらなかつた。

人型菌接種後のツ反応の大きさについては、ときには多少の差があつたが、かいて各群ともに相似たものであつた。

剖検時の肉眼的ないし病理組織学的所見は肺、肝臓、脾臓ともに BCG 接種群では対照群に比べて軽度であつた。BCG の反復接種群と1回接種群あるいは乱切法群と塗擦法群の間では総体的にみて病変の程度の差は見当たらなかつた。

臓器からの結核菌の培養に関しては肺、肝臓、脾臓ともに BCG 接種群では対照群に比してその陽性度あるいはコロニー数が少なかつた。反復接種群と1回接種群、あるいは乱切法群と塗擦法群の間では差は認められなかつた。

結 語

私は BCG の乱切法あるいは塗擦法によつて、海狸に BCG の反復接種あるいは1回接種を行なつて次の結果を得た。

1) BCG の接種によりツ反応の陽性になつたもの

に、さらに BCG を反復接種しても局所の副作用は初回接種に比して増大することはない、またこれらの副作用は軽微であつて問題にならない。

2) BCG を反復接種しても人型菌接種後の剖検所見は1回接種のものと同程度である。

3) かように BCG の接種によつてツ反応の陽転しているものにさらに BCG を接種しても特別の支障がないから、ツ反応の陰陽にかかわらず、すなわちあらかじめツ反応を検査することなしに BCG を無選択的に接種することが差許されるであろう。この反復接種によつてツ反応を絶えまなしに陽性に保つことができ、またツ反応検査の手数を省略することが可能になるであろう。

4) BCG の反復接種の場合には、塗擦法においても乱切法におけると同程度の結核免疫を与えることができる。しかしツ反応陰性のものに BCG を初接種する場合には、ツ反応は塗擦法におけるよりも乱切法におけ

るほうがより速やかに陽転するから、初回接種は乱切法によるがよく、以後の反復接種は局所副作用のより軽微な点から考えて塗擦法によるのがよいと思える。

5) 反復乱切接種にさいし、そのワクチンにピロカルピンとヒアルロニダーゼとを混和すると、局所副作用を増大させることなしにツ反応の陽転率によい影響を与える。

文 献

- 1) 梅村芳宏：弘前医学，9：1，昭33.
- 2) 大池彌三郎 他：抗研誌，4：16，昭23.
- 3) 大池彌三郎：抗研誌，5：1，昭24.
- 4) 大池彌三郎：抗研誌，5：104，昭24.
- 5) 海老名敏明 他：結核，29：150，昭29.
- 6) 矢島忠：結核，30：123，昭30.
- 7) 益子義教：結核，23：19，昭23.