

# H<sub>37</sub>Ra の生体内増殖とツベルクリン・アレルギー形成に関する研究

— ことに H<sub>37</sub>Ra と BCG の静脈内混合接種と単独接種にみられる相違について —

豊原 希一・大林 容二

結核予防会結核研究所 (所長 隈部英雄)

受付 昭和 35 年 8 月 12 日

H<sub>37</sub>Ra の生体内増殖をマウスについてみた研究はすでに幾つかみられるが<sup>1)~4)</sup>, モルモットについてみた実験はあまりみない<sup>5)</sup>。とくに同じく弱毒化結核菌である BCG を同時にモルモット静脈内に接種したとき, 両者の菌力の差が生体内増殖にいかなる差となつて現われるか強毒菌と弱毒菌を混合接種したときにみられるような干渉現象がみられる<sup>6)</sup> か否かという問題についてはまだその報告をみない。よつて今回われわれはモルモットの静脈内に H<sub>37</sub>Ra および BCG を単独ならびに混合接種し, その生体内消長とツベルクリン・アレルギーの変動を観察し興味ある知見を得たので報告する。

## I 実験方法

1) 菌株として BCG, H<sub>37</sub>Ra, H<sub>37</sub>Ra SM 100 γ 完全耐性菌 (H<sub>37</sub>Ra SMR と略) を用いる。

BCG: 同一 Lot の凍結乾燥 BCG で 1 mg 中生菌数 25×10<sup>5</sup>。

H<sub>37</sub>Ra: Sauton 合成液体培地 2 週培養菌 1 mg 中生菌数 18×10<sup>5</sup>。

H<sub>37</sub>Ra SMR: Sauton 合成液体培地 2 週培養菌 1 mg 中生菌数 19×10<sup>5</sup>。

### 2) 実験群

各菌株を単独接種するとともに同一の場における異株弱毒菌の相互作用をみるため BCG と H<sub>37</sub>Ra を混合接種する。培養時両者を識別するため H<sub>37</sub>Ra の代りに H<sub>37</sub>Ra SMR を用いた。すなわち実験群として次の 4 群をおく。

- (i) BCG 接種群
- (ii) BCG + H<sub>37</sub>Ra SMR 接種群
- (iii) H<sub>37</sub>Ra SMR 接種群
- (iv) H<sub>37</sub>Ra 接種群

### 3) 接種方法

Römer 反応陰性, 体重 300~350 g, 雄モルモットの足背部静脈内に菌接種する。

### 4) 接種菌量

各群所定の各菌株を 1 匹につき 1/10 mg 接種する。したがつて混合接種群では BCG および H<sub>37</sub>Ra SMR をそれぞれ 1/10 mg ずつ接種する。

### 5) 臓器培養

菌接種後 3 週間, 1 週, 2 週, 3 週, 4 週, 6 週, 8 週, 12 週に各群 2 匹ずつ殺し臓器培養する。臓器は肝, 脾, 肺とし培養に供する臓器量は 1 mg とする。

### 6) 感性菌と耐性菌との識別

混合接種群および H<sub>37</sub>Ra SMR 接種群の臓器培養にさいしては感性菌と耐性菌を識別するために 1% 小川培地と SM 100 γ/cc 含有 1% 小川培地に臓器 1 mg を同時に培養し, 耐性培地に生えた菌数をもつて H<sub>37</sub>Ra SMR とし対照培地に生えた菌数と耐性培地に生えた菌数の差を BCG とする。

7) ツベルクリン・アレルギー (以下ツ・アレルギーと略) の変動

菌接種後 3 週までは毎週, 3 週以後 11 週までは 2 週おきに 100 倍 OT 0.1 cc 皮内注射 24 時間後の硬結の大ききをもつてツ反の消長をみる。

## II 実験成績

### 1) ツ・アレルギーの変動 (図 1)

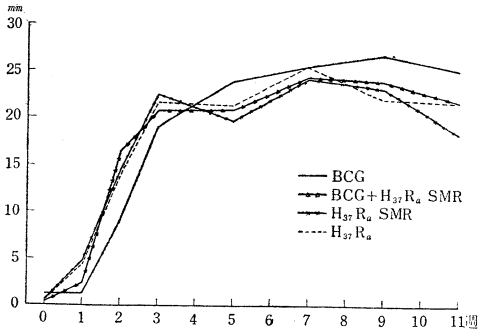
図 1 にみるごとく第 1 週では各群ともツ反は 5 mm 以下であるが第 2 週では BCG 群 8.9 mm, BCG + H<sub>37</sub>Ra SMR 混合接種群 16.5 mm, H<sub>37</sub>Ra SMR 群 14.3 mm, H<sub>37</sub>Ra 群 13.8 mm となり BCG 群の反応がやや弱い。第 3 週には BCG 群 18.8 mm, 混合接種群 20.7 mm, H<sub>37</sub>Ra SMR 群 22.5 mm, H<sub>37</sub>Ra 群 21.5 mm となり全群強い硬結を示し各群の差は著明でない。3 週以後 BCG 群のツ反は 9 週まで漸次増強するが BCG 以外の群の変動はあまり著明でない。11 週では各群ともそのツ・アレルギーは減弱する傾向にある。

### 2) 生体内における菌の消長

静脈内菌接種後に菌が定着, 増殖する主要臓器として肝, 肺, 脾を選び各臓器における菌の消長を相互に比較した。ここにいう定着とは接種時の菌が各臓器に到達したときの状況でありそのときの菌数を出発点としてその後の経過を比較する。本実験では接種後 3 時間の菌数をもつて定着菌数とした。

#### (A) 単独接種の場合

図1 ツベルクリン・アレルギーの変動



BCG, H<sub>37</sub>R<sub>a</sub>, H<sub>37</sub>R<sub>a</sub> SMR をそれぞれ単独に静脈内に接種し肝, 肺, 脾への菌の定着および増殖消滅の状況を見た。

(i) 肝における菌の消長 (図2)

H<sub>37</sub>R<sub>a</sub> SMR の増殖のピークは3週目であり菌定着時の5倍強となる。その後菌数は減少をはじめ6週以後急速に減る。

H<sub>37</sub>R<sub>a</sub> は1週目には一たん減少し2週目に再び増加するが定着時の1.5倍にしかならない。その後減少をはじめ3週目には早くも定着時の菌数以下になり4週以後急速に減る。

これに対し BCG は2週までわずかながら菌の増殖が認められるが2週以後は急速に減少してゆく。

図2 単独接種群 (肝)

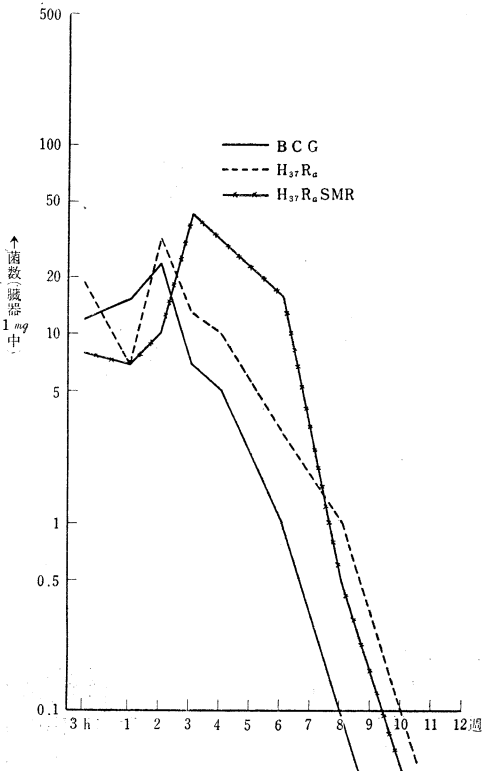


図3 単独接種群 (肺)

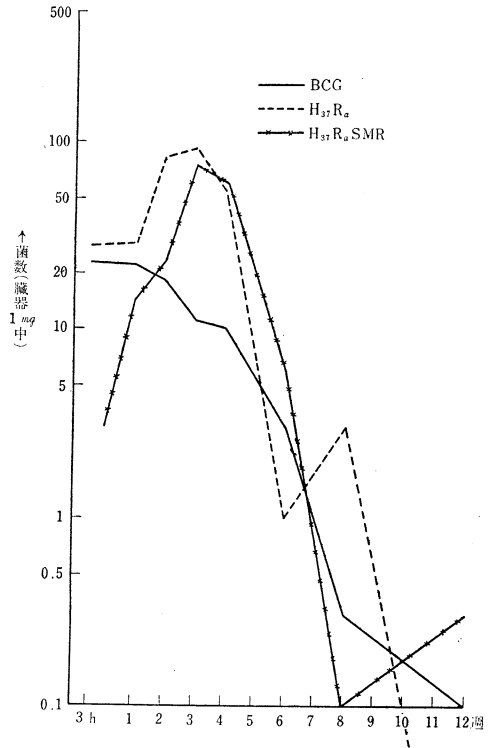
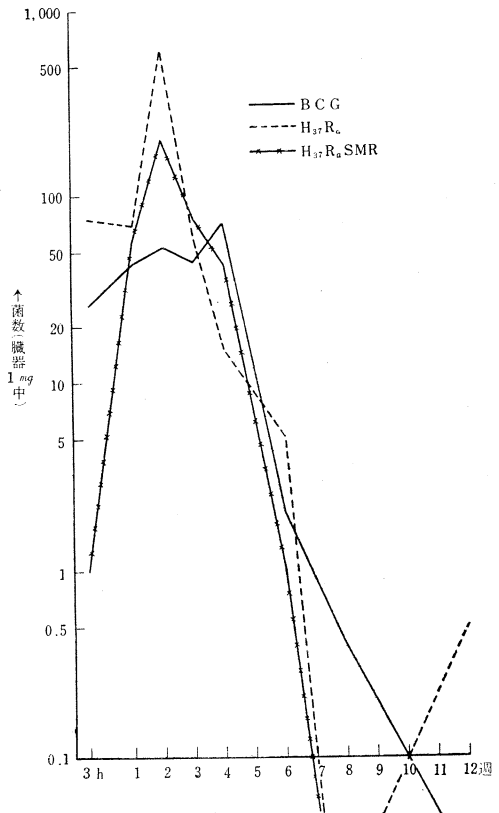


図4 単独接種群 (脾)



(ii) 肺における菌の消長 (図3)

H<sub>37</sub>Ra, H<sub>37</sub>Ra SMR ともに 3 週目に増殖のピークがあり H<sub>37</sub>Ra SMR の増殖率のほうが H<sub>37</sub>Ra より大きい。3 週以後はいずれも減少しその減少過程はほぼ同様である。

BCG は肺内においては増殖することなく漸次減少してゆく。

(iii) 脾における菌の消長 (図4)

H<sub>37</sub>Ra, H<sub>37</sub>Ra SMR ともに 2 週目に増殖のピークがあり肺におけるより増殖が早い。しかし H<sub>37</sub>Ra SMR の増殖率のほうが H<sub>37</sub>Ra より大であることは肺および肝における場合と同様である。消失の過程も肺、肝よりやや早い。

BCG は 4 週まではわずかに増殖するがその後は急速に減少する。

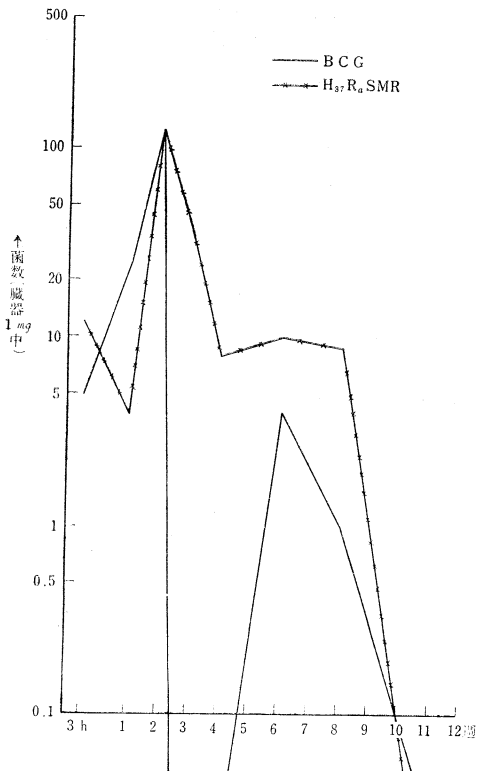
(B) 混合接種の場合

H<sub>37</sub>Ra SMR と BCG を混合接種し単独接種と同じ方法で経時的に両者の菌の消長を相互に比較しつつみる。

(i) 肝における菌の相互関係 (図5)

H<sub>37</sub>Ra SMR は 1 週後に定着時の菌数より一たん減少するが 2 週目に急激に上昇し定着時の 10 倍になる。しかしそれ以後減少をはじめ 4 週後には定着時菌数以下

図5 混合接種群 (肝)



になる。4 週から 8 週まではほぼ一定の菌数を保つが、12 週には生菌を認めない。

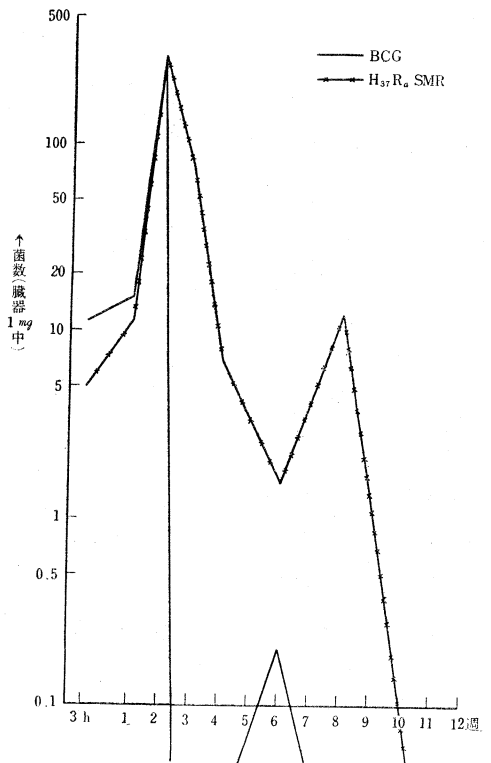
これに対し BCG は定着後ただちに増殖をはじめ 2 週後に最高となりこのときの菌数は H<sub>37</sub>Ra SMR と同数である。2 週以後急激的に菌は減少し 3 週目には生菌を認めない。ところが 6 週目に再び出現し臓器 1 mg 中に 4 コ、8 週目に 1 コを認める。12 週には生菌を認めない。

(ii) 肺における菌の相互関係 (図6)

H<sub>37</sub>Ra SMR は 1 週と 2 週の間急激な菌増殖を示す。2 週以後 6 週までは急激に菌が減少するが 8 週目には再び増加し第 2 の山を認める。8 週以後は再び減少し 12 週には生菌を認めない。

これに対し BCG は肝の場合と同じく 1 週から 2 週にかけて急激な菌増殖をみるがこれ以後急激的な減少を示し 3 および 4 週には生菌を認めなくなる。しかし 6 週ではわずかながら再び生菌を認めるが 6 週以後は消滅する。

図6 混合接種群 (肺)

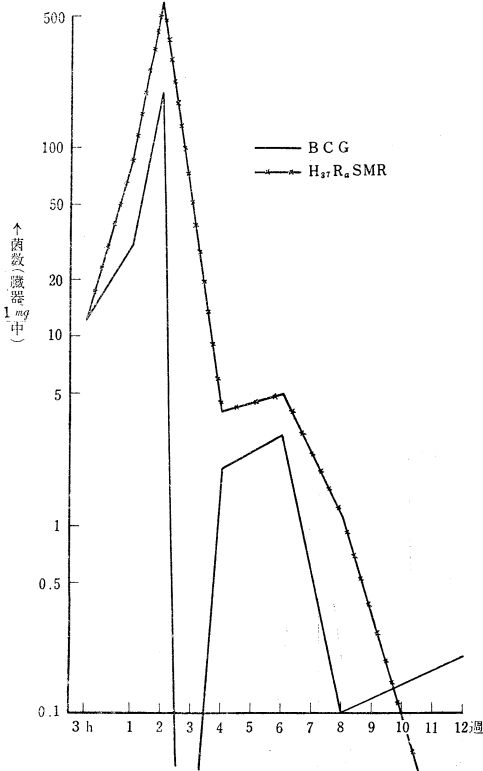


(iii) 脾における菌の相互関係 (図7)

H<sub>37</sub>Ra SMR は定着時以後ただちに急激な増殖を開始し 2 週に最高となるが 2 週以後 4 週まで急速に減少し 6 週ではわずかに増加するが、それ以後再び急速に減少し 12 週では生菌を認めない。これに対し BCG

は 2 週までは増殖するが肝, 肺の場合と同じく 2 週以後急激的に減少し 3 週では BCG を認めない。しかるに H<sub>37</sub>Ra SMR が減少する 4 週では再び BCG を見出すようになり 4 週以後 8 週までは H<sub>37</sub>Ra SMR の消長とほぼ平行する。なお 12 週目にもわずかながら BCG は認められた。

図 7 混合接種群 (脾)



III 考 察

肝, 肺, 脾いずれの臓器にも共通にいえるが混合接種群では H<sub>37</sub>Ra SMR, BCG とともに接種後 2 週目に菌数は最高となる。単独接種では各菌株とも 2 週以後に最高値を示す場合が多い。混合接種では単独接種に比べ lag phase が短い。単独接種の場合, BCG は肺では定着以後増殖することなく減少してゆく。また他の臓器でも BCG は増殖が著明でないが混合接種すると 2 週目に強い増殖を示す。H<sub>37</sub>Ra SMR も単独より混合接種のほうがはるかに増殖が強い。すなわち混合接種の場合少なくとも 2 週までは両株の菌の協調作用が認められるようである。次に混合接種群では 2 週以後 BCG は急激に減少する。H<sub>37</sub>Ra SMR の減少よりはるかに急である。同じ弱毒菌でも菌力において H<sub>37</sub>Ra SMR が BCG より強いのでこの差が干渉現象となつて現われるのではないかと考えられる。しかし BCG は 3 週で完全に死滅したわけではなく 4 週または 6 週に少数な

がら生菌の再現をみる。すなわち, ちょうど H<sub>37</sub>Ra SMR がほぼ定着時以下の菌数にまで減少したときに再現する。これは 2 週以後少数の BCG が臓器内に休止の状態にあり H<sub>37</sub>Ra SMR の菌力が総体として減少したため再び増殖したという解釈もできよう。単独接種の場合にはかかる現象はみられない。

ツ・アレルギーについてみると BCG 単独接種群を除き 2 週後からツ・アレルギーが発現し第 3 週には全群強いツ・アレルギーを示す。静脈内接種の場合ツ・アレルギーは皮下接種より陽転が遅いという報告<sup>6) 7)</sup>が多いが本実験ではややそれと異なる成績を得た。また混合接種群の接種菌量は総体として単独接種の倍量であるにもかかわらずとくにツ・アレルギーが強いという結果を得られなかつた。BCG 接種群以外は第 7 週目からツ・アレルギーは弱くなつてゆく傾向を示した。

単独接種の場合, マウス体内では H<sub>37</sub>Ra は増殖しないという報告<sup>8) 9)</sup>があるが, 本実験にみるごとくモルモット体内では明らかに増殖を示した。

IV 結 論

2 種の弱毒結核菌 H<sub>37</sub>Ra SMR と BCG を混合接種し菌が単独接種時と異なつた態度を示すか否かを 4 群に分けて検討し次の知見を得た。

- 1) 混合接種をすると単独接種より増殖速度が早められ H<sub>37</sub>Ra SMR, BCG とともにその増殖のピークは第 2 週にあり, とともに単独接種時より最高増殖時の菌数は多い。すなわち協調作用がみられる。
- 2) 混合接種群では BCG は 2 週以後急激に減少し 3 週目には各臓器に菌を培養しえなかつた。逆に H<sub>37</sub>Ra SMR は単独接種よりむしろ長く生き残る傾向がみられた。すなわち干渉現象がみられた。これは同じ弱毒菌でも H<sub>37</sub>Ra SMR の菌力が BCG のそれより強いためと思われる。
- 3) 各群とも 3 週後には強いツ・アレルギーを示し混合接種群と単独接種群との間には差はみられなかつた。

謝辞: 実験遂行に多大の労を煩わした野口, 塚越両氏に感謝いたします。本実験の要旨は第 35 回結核病学会総会において発表した。

文 献

- 1) 加藤允彦 他: 結核, 32 : 472, 昭32.
- 2) Mackaness et al. : Am. Rev. Tbc., 69 : 479, 1954.
- 3) Pierce et al. : J. Exp. Med., 97 : 189, 1953.
- 4) 加藤允彦 他: 結核, 32 : 557, 昭32.
- 5) 勝山茂 他: 医学と生物学, 35 : 142, 昭30.
- 6) 長田進: 結核, 33 : 769, 昭33.
- 7) 有馬純 他: 医学と生物学, 43 : 23, 昭32.
- 8) 三木勝治 他: 結核, 33 : 568, 昭33.
- 9) Bloch, H. et al. : Am. Rev. Tbc., 71 : 228, 1955.