

第 50 回 総 会 シ ン ポ ジ ウ ム

I. ミコバクテリアの免疫学的活性

座長・司会 山 村 雄 一

受付 昭和 50 年 10 月 2 日

The 50th Annual Meeting Symposium

I. IMMUNOLOGICAL ACTIVITY OF MYCOBACTERIA

Chairman: Prof. Yuichi YAMAMURA

(Received for publication October 2, 1975)

Tubercle bacilli are interesting material as the subjects for biochemical and immunological research because of their manifold biochemical properties and biological activities. Some of the topics concerning the biochemical and biological activities of components of tubercle bacilli were discussed in this symposium.

Interesting findings were reported by Dr. I. Azuma about the adjuvant activity of cell wall together with its anti-tumor activity, which suggests its applicability to immunotherapy of cancer. Dr. Koga made a study on pathogenesis of adjuvant arthritis caused by tubercle bacilli which was reported by Dr. Pearson from the stand point of components of tubercle bacilli.

Dr. Sasaki reported about the recent findings on the biochemical and immunological studies on phospholipid antigen which was discovered by Prof. Takahashi. Dr. Maeda elucidated the background of experimental tuberculous cavity in rabbit induced by Prof. Yamamura, and it was found that the cellular immunity in lung provoked by protein antigen and intensive adjuvant is playing an important role in cavity formation.

Additional comments were made by Dr. Kato on biological activities of glycolipid and by Prof. Matsuo on tuberculin peptide, both of which were unique research works on the biological activities of components of tubercle bacilli.

All the investigations reported in this symposium show certain aspects of various interesting biological activities of cell components of tubercle bacilli, and these materials should be subjected to further immunological research in the future.

1. 結核菌細胞壁のアジュバント活性と抗腫瘍活性

大阪大学医学部第三内科 東 市 郎

結核菌が強いアジュバント活性を有することは周知の事実であるが、さきに著者ら¹⁾は細胞壁画分が結核菌菌体成分のうちで最も重要なアジュバント活性因子であることを明らかにした。更に近年 BCG 生菌による癌の免疫療法が注目をあび、その実験モデル、作用機構などに

ついて多くの報告があるが、著者らは細胞壁画分が BCG 生菌に匹敵する抗腫瘍活性を有することを見出した。

ここでは数多く見出されている結核菌細胞壁の生物活性のうちでも特に最近注目をあびているアジュバント活性と抗腫瘍活性について著者らの最近の成績を中心に述

べる。

I. 結核菌細胞壁の精製²⁾と化学構造

結核菌菌体の水浮遊液を Sorvall 細胞分画機で 35,000 psi の高压で破砕し、遠心分画後、蛋白分解酵素処理、有機溶媒による抽出を繰返して得た残渣を細胞壁 (CWS) として使用した。ウシ型結核菌 BCG 株から得られる細胞壁は約 34% のミコール酸、約 38% のアラビノガラクトタン、約 20% のムコペプチドからなり、化学構造上、“ミコール酸-アラビノガラクトタン-ムコペプチド”複合体であり、各成分の化学的性状の詳細についてはすでに著者らにより明らかにされている。BCG 細胞壁 (BCG-CWS) の構成ミコール酸は炭素数約 70~86、 α 位に C_{24} の分岐と β 位に水酸基を有する特異な高級脂肪酸であり、mycobacteria 共通の菌体成分の 1 つである。また中性多糖体であるアラビノガラクトタンは D-アラビノースと D-ガラクトースからなる血清反応抗原である。ムコペプチドの構成成分についてはアラニン、グルタミン酸、ジアミノピメリン酸、グルコサミン、ムラミン酸であり、ムラミン酸が通常細菌細胞壁のそれが N-アセチル基を含むのに対してミコバクテリアのムラミン酸は N-グリコシル基を含むことが著者らにより明らかにされた。ムコペプチドの結合様式についても

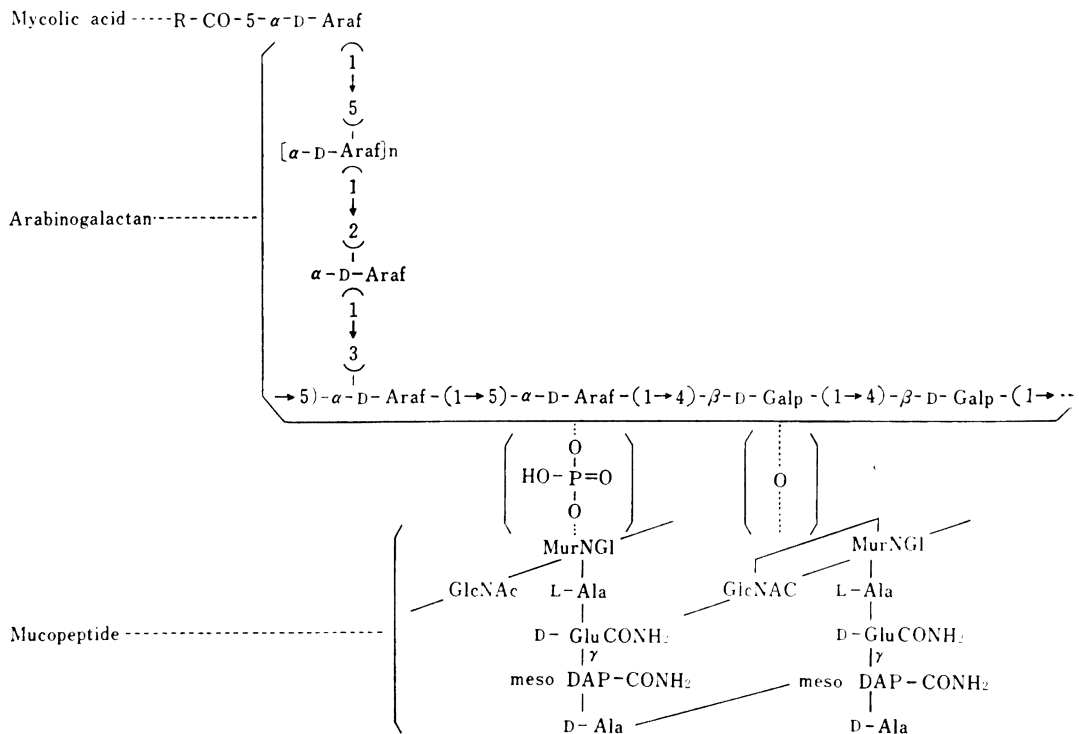
検討された (図)。

II. 結核菌細胞壁のアジュバント活性

著者ら³⁾はすでに BCG をはじめとして種々の mycobacteria の細胞壁が *in vivo* の免疫反応において強いアジュバント活性を有すること、上記細胞壁の化学構造のうちムコペプチド画分が活性中心であることを明らかにした。これら mycobacteria 細胞壁は *in vivo*³⁾の系において血中抗体、細胞性免疫の増強を示すこと、更に *in vitro*⁴⁾の免疫反応の系においても強い抗体産生増強能を示すことが明らかにされた。その際 BCG 細胞壁が helper T 細胞に作用する⁴⁾ことが明らかにされた。

著者ら⁵⁾は mastocytoma P815-X2 腫瘍細胞を鉍物油処理 BCG 細胞壁と共に C₅₇BL/6J マウスに免疫後、マウス脾細胞を effector 細胞とし、⁵¹Cr-mastocytoma 腫瘍細胞を target 細胞として Brunner の方法で cell-mediated cytotoxicity 活性を測定すると表 1 に示すように、BCG 細胞壁は TNP-mastocytoma P815 腫瘍細胞に対する cell-mediated cytotoxicity 活性の誘導にアジュバント活性を示すが、TNP 基に対する血中抗体産生に対してアジュバント活性を示さなかつた。この実験事実以下に述べる BCG 細胞壁の抗腫瘍活性における全身性の腫瘍免疫の誘導とも考え合わせ興味深い。この

Fig. Principal Chemical Structure of Mycobacterial Cell Wall Structure



RCO: Mycolic acid residue, D-Araf: D-arabinofuranoside, D-Galp: D-galactopyranoside, Mur NGL: N-glycolylmuramic acid, GlcNAc: N-acetylglucosamine

Table 1. Effect of Oil-attached BCG-CWS on Humoral and Cellular Responses to Viable TNP-mastocytoma P815-X2 Cells in Mice

| Group | C ₅₇ BL/6J mice were immunized with ^{a)} | Specific target cell lysis(%) | Anti-TNP-PFC/spleen |
|-------|--|-------------------------------|--------------------------|
| 1 | TNP-mastocytoma P815-X2(10 ⁴) + oil-attached BCG-CWS(100 μg) | 90.2 | 1,495 ± 97 ^{c)} |
| 2 | " + oil droplets | 60.0 | 1,320 ± 209 |
| 3 | " + medium | 42.5 | 1,485 ± 79 |
| 4 | " (3 × 10 ⁷) + oil-attached BCG-CWS(100 μg) | 100.0 | 4,750 ± 329 |
| 5 | " + oil droplets | 100.0 | 4,520 ± 202 |
| 6 | " + medium | 95.3 | 4,300 ± 161 |

a) C₅₇BL/6J mice were immunized i. p. with TNP-mastocytoma P815-X2 cells with or without oil-attached BCG-CWS, oil droplets, or medium. Eleven days later, cytotoxic activity and anti-hapten responses of spleen cells obtained from immunized mice were determined. b) ⁵¹Cr-release assay was performed at 100:1 of effector cells to target cells. c) Mean ± SE.

Table 2. Suppression of Tumor Growth Oil-attached Cell-wall Skeleton Prepared from Mycobacteria

| Cell-wall skeletons of | Dose (μg) | No. of mice tested | Mastocytoma-P815 ^{a)} (Exp. 730713 730929) | | EL-4 leukemia ^{b)} (Exp. 730930) | Melanoma B16 ^{c)} (Exp. 730726) |
|---|-----------|--------------------|--|-------|--|---|
| <i>M. bovis</i> BCG (Lot No. 181) | 100 | 10 | 9/9 | 10/10 | 2/6 | 9/10 ^{d)} |
| (Lot No. 182) | 100 | 10 | 4/4 | 6/6 | 2/6 | |
| <i>M. kansasii</i> | 100 | 10 | 4/4 | 8/8 | 0/1 | 9/10 |
| <i>M. tuberculosis</i> H ₃₇ Rv | 100 | 10 | 4/4 | 5/6 | 2/8 | 3/8 |
| <i>M. tuberculosis</i> H ₃₇ Ra | 100 | 10 | 5/5 | 6/7 | 1/8 | 9/10 |
| <i>M. smegmatis</i> | 100 | 10 | 2/2 | 6/6 | 7/9 | |
| Control (oil droplets) | | 10 | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 0/0 |

a) A mixture of mastocytoma-P815 (2 × 10⁴) and oil-attached mycobacterial cell-wall skeleton was inoculated intradermally in mice of (C₅₇BL/6J × DBA/2) F₁. Figures show the results 43 days after inoculation.

b) A mixture of EL-4 leukemia (5 × 10⁴) and oil-attached mycobacterial cell-wall skeleton was inoculated intradermally in mice of C₅₇BL/6J. Figures show the results 23 days after inoculation.

c) A mixture of melanoma-B16 (1 × 10⁵) and oil-attached mycobacterial cell-wall skeleton was inoculated intradermally in mice of C₅₇BL/6J. Figures show the results 35 days after inoculation.

d) No. of tumor-free mice/No. of mice survived.

ように BCG 細胞壁は helper T 細胞, killer T 細胞共に作用することが明らかにされた。

BCG 細胞壁は T, B 両細胞に mitogenic activity を示すことが C₅₇BL/6J マウス脾, 胸腺細胞, 胸腺欠損マウス (nude マウス) の脾細胞を用いる実験により明らかにされた⁶⁾。

III. 結核菌細胞壁の抗腫瘍活性

最近 BCG 生菌を用いる癌の免疫療法が注目をあび、多くの基礎的、臨床的研究が報告されつつあるが、BCG 生菌のもつ副作用が大きな問題点となっている。さきに著者ら⁷⁾は BCG 細胞壁の抗腫瘍性について strain 2 モルモットを用い同系の line 10 hepatocarcinoma に対して検討したが、その後同系マウス移植癌に対して詳細に検討した。EL 4, melanoma B 16, mastocytoma P 815 などの腫瘍細胞を鉍物油処理 BCG 細胞壁と混合し、同系マウス皮内に移植すると、腫瘍の生育は阻止され、マ

ウスに腫瘍に対する特異的、全身性腫瘍免疫が誘導される。同様の抗腫瘍活性は BCG 細胞壁のみならず同様の基本構造を有するその他の mycobacteria (表 2), nocardia, corynebacteria の細胞壁も BCG 細胞壁と同様の抗腫瘍性を示した。更に腫瘍生細胞のみならず X 線照射、マイトマイシン処理腫瘍細胞を鉍物油処理 BCG 細胞壁と共に同系マウス皮内に免疫すると弱いながらも腫瘍免疫が誘導される。

更に著者ら¹⁰⁾はスイスマウスに化学発癌させた fibrosarcoma, 自然発癌の乳癌の autograft の系について鉍物油処理 BCG 細胞壁の抗腫瘍作用について検討し、両自家腫瘍の autograft に対しても抑制効果を認めている。著者らは兎における化学発癌剤塗布による実験的肺癌の発癌が鉍物油処理 BCG 細胞壁の静注により抑制されることを見出している。

一般に担癌生体において T 細胞の機能が低下していることが北川ら、著者らにより helper T 細胞, killer T

細胞について明らかにされたが、鉱物油処理 BCG 細胞壁投与により正常域にまで回復される¹¹⁾。現在 BCG 細胞壁はヒト癌の免疫療法剤として試みられつつある。

結 論

結核菌から精製され、化学構造の明らかにされた細胞壁は強いアジュバント活性を有し、同系移植癌、自家癌において強い抗腫瘍活性を有する。同様のアジュバント活性は細胞壁と基本的に同様の化学構造を有する精製した peptidoglycolipid (Wax D) においても認められた。

文 献

- 1) Azuma, I., Kishimoto, S., Yamamura, Y. and Petit, J.-F.: Japan. J. Microbiol., 15 : 193, 1971.
- 2) Azuma, I., Ribi, E. E., Meyer, T. J. and Zbar, B.: J. Natl. Cancer Inst., 52 : 95, 1974.
- 3) Azuma, I., Kanetsuna, F., Taniyama, T., Yama-

mura, Y., Hori, M. and Tanaka, Y.: Biken J., 18 : 1, 1975.

- 4) Taniyama, T., Watanabe, T., Azuma, I. and Yamamura, Y.: Japan. J. Microbiol., 18 : 415, 1974.
- 5) Taniyama, T., Azuma, I. and Yamamura, Y.: Japan. J. Microbiol., 19 : 255, 1975.
- 6) Azuma, I., Taniyama, T., Sugimura, K. and Yamamura, Y.: Japan. J. Microbiol., (投稿中)
- 7) Zbar, B., Ribi, E. E., Meyer, T., Azuma, I. and Rapp, H. J.: J. Natl. Cancer Inst., 52 : 1571, 1974.
- 8) Meyer, T. J., Riki, E. E., Azuma, I. and Zbar, B.: J. Natl. Cancer Inst., 52 : 103, 1974.
- 9) Azuma, I., Taniyama, T., Hirao, F. and Yamamura, Y.: Gann, 65 : 493, 1974.
- 10) Tokuzen, R., Okabe, M., Nakahara, W., Azuma, I. and Yamamura, Y.: Gann, 66 : 433, 1975.
- 11) Taniyama, T., Azuma, I., Aladin, A. A. and Yamamura, Y.: Gann, 66: No. 6, 1975.

2. アジュバント関節炎誘起活性

九州大学歯学部生化学 古 賀 敏 生

Freund 完全アジュバントはラットにおいて多発性の慢性関節炎を誘起することが知られアジュバント(「ア」)関節炎と呼ばれている。本症はヒト関節リウマチの代表的な実験モデルとされ、また実用的には抗炎症薬のスクリーニングにも適したモデルとして広く用いられている。本症を誘起し得る物質としては、表1に示すように人型結核菌とその Wax D 画分、細胞壁画分のほか、BCG とその細胞壁、結核菌属の *Nocardia* や *Corynebacterium* とそれぞれの細胞壁画分が知られている。最近、われわれは結核菌 Wax D 由来の水溶性画分ならびに諸種グラム陽性菌細胞壁とそれらの水溶性画分が本症の誘起に関与することを見出した。

ところで「ア」関節炎は免疫的機序で起こるとされているが、その発症抗原が不明であるために機序の解明は困難視されて来た。本シンポジウムでは、結核菌 Wax

D の中で本症の機序を明らかにする上で有用とみられる成分について検討した実験成績を中心に述べ、また後半の部分では結核菌以外の諸種細菌細胞壁とその水溶性画分を用いて得たデータにも触れながら関節炎誘起に必須の共通構造部分が何かについて考察を加えた。

Wax D は多彩な免疫活性ないしは生物活性をもつことが知られているが、その中で「ア」活性が関節炎の発症に関与するか否かの解析はこれまで十分になされているとはいえない。よつてその解析の目的に2つの Wax D 誘導体を用いることにしたが、いずれもツベルクリン感作能のないことがあらかじめ確かめられた Wax D を選び、これを出発材料とした。第1の誘導体はアジュバントでアセチル化 Wax D (AD) とその AD6 画分でこれは Tanaka の方法により調製した。第2の誘導体は抗原性をもつ画分で、Wax D のケン化処理で得水溶部をセファデックス G-50 と G-100 カラムを用いたゲル濾過により分画した高分子量画分である。なおこの分画法で得た低分子量画分とツベルクリン蛋白 (PPD) についても活性の検討を行った。使用したラットは雌性 Lewis strain で試料はすべて Freund 不完全アジュバントの形でラットのリンパ節内に Newbould 法に準じて注射を行った。この方法は従来広く行われている足うら皮内法に比べてはるかに感度が高い方法であることをあらかじめ確かめて採用した。

繰返しの実験で得た成績を表2にまとめたが、(1) Wax D 水溶部の高分子量画分は低頻度で軽症ながら典

Table 1. Induction of Polyarthritis in the Rat

| |
|--|
| <i>M. tuberculosis</i> cells (Pearson, 1956) |
| Wax D (Bonhomme, et al., 1968) |
| Cell walls (Bonhomme, et al., 1969) |
| BCG cell walls (Bonhomme, et al., 1969, Azuma, et al., 1972) |
| <i>N. asteroides</i> cell (Flax and Waksman, 1963) |
| Cell walls (Azuma, et al., 1972) |
| <i>C. rubrum</i> cells and cell walls (Paronetto, 1970, 1972) |
| <i>C. diphtheriae</i> cells and cell walls (Azuma, et al., 1972) |

Table 2. Ability of HMWC or AD6 (an adjuvant) Compared with the Inability of Adjuvant Alone, PPD or LMWC+Adjuvant to Induce Adjuvant Arthritis (Summary of several experimental results)

| Lymph node injection antigen | Adjuvant | Number of experiment | Arthritis | |
|------------------------------|------------|----------------------|---------------|----------|
| | | | Incidence | Severity |
| HMWC* | — | 9 | 17/58(29.3) % | Mild |
| HMWC | AD or AD6§ | 7 | 46/48(95.8) | Severe |
| — | AD or AD6 | 5 | 0/36(0) | |
| PPD | AD or AD6 | 3 | 0/20(0) | |
| LMWC† | AD6 | 2 | 0/16(0) | |

* HMWC: Higher molecular weight component (F-I, IA, IB)

† LMWC: Lower molecular weight component (F-II, III)

§ AD or AD6: Acetylated Wax D or its subfraction

型的な関節炎を誘起した。(2) AD と AD6 画分を単独で用いても発症は全く認められず、これは従来の報告とも一致する知見である。(3) 高分子量画分の関節炎誘起活性は AD または AD6 の併用で顕著に増強した。一方(4) PPD と Wax D 由来の低分子量画分は AD6 と併用しても関節炎を誘起し得なかつた。これらの実験成績から、関節炎誘起の条件としてアジュバントの単独使用は発症に十分条件とはいえないが Wax D 水溶部の高分子量画分と併用することにより関節炎を著しく増強する効果をもつこと、更に「ア」活性と「ア」関節炎誘起活性は互いに分離し得る活性であることを知った。

単独で用いても関節炎を誘起し得た Wax D 由来の水溶性高分子量画分は peptidoglycan (PG) と arabinogalactan (AG) を主成分とすることを化学分析により確かめているが、今後更に高度精製をおすすめたい。化学的にみると後述する Adam らの *M. smegmatis* 細胞壁由来の水溶性アジュバント (WSA) と類似していることがわかった。因みに Wax D 由来の当該画分の大量を蛋白抗原と併用するとモルモットで蛋白抗原に対する遅延型過敏症を誘起したがラットでは類似の実験系での検討で「ア」活性を認めていない。

次に、Wax D 中には既述したツベルクリン蛋白のほかに cord factor, lipoprotein などが微量含まれ、これが関節炎の誘起に関与する可能性も考えられた。そこでこれらの成分について発症力の有無を直接的に検討することにした。Cord factor は阪大微研、加藤允彦博士から分与されたもので、0.002~0.1 mg 量を Freund 不完全アジュバントの形で供試したが、関節炎発症は全く認められなかつた。また阪大小谷尚三教授と下野博士から分与頂いた BCG 菌の cytoplasmic membrane 由来の lipoprotein にも発症力は見出せなかつた。このような対照実験によつて Wax D 中の微量の混在成分の関与は否定され PG と AG との複合物が関節炎の誘起に必須の化学構造であると推論した。

では PG と AG のいずれの部分が関節炎の発症によ

Table 3. Arthritogenicity of Various Cell Walls and Water-soluble Components (In collaboration with Drs. Kotani, Kohashi and others)

| Cell walls | |
|--|------------------------------|
| <i>M. smegmatis</i> | BCG |
| <i>C. diphtheriae</i> | |
| <i>Streptococcus</i> (group A beta-hemolytic, group N) | |
| <i>Strept. mutans</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| <i>Cl. botulinum</i> | <i>B. megaterium</i> |
| <i>Streptomyces</i> | <i>L. plantarum</i> |
| Water-soluble components | |
| derived from: | |
| <i>Streptococcus</i> , group A beta-hemolytic | |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>L. plantarum</i> |

り重要であろうか。この解析の目的で、AG の消化酵素として知られた M2 酵素を用いて既述の Wax D 由来の水溶性関節炎誘起成分の消化を行った(阪大-小谷、加藤両博士との協同研究による)。酵素消化後の試料について遊離還元基の増加およびウサギ抗結核菌体血清に対するゲル内沈降活性の消失を示標として検討した成績から、M2 酵素によつて AG 部分は十分に消化されたことをあらかじめ確かめることができた。さて未消化の試料を対照として関節炎誘起活性をしらべた結果、酵素消化によつて関節炎誘起能にはほとんど影響が認められなかつた。この実験データから関節炎誘起には AG 部分よりも PG 部分がより重要であるとみられる。

さて表3に示すように、結核菌属のみならず諸種細菌細胞壁および PG 水解酵素を数種の細胞壁に作用させて分離された水溶性高分子量画分にも関節炎誘起活性があることを見出した。これは PG 部分が関節炎誘起に関与することを直接的に示す実験成績と思われる。最近 *S. aureus* 細胞壁由来の disaccharide-hexapeptide の polymer と monomer いずれの type にも強い「ア」活性があることが明らかにされた(Kotani ら)、しかし関節炎誘起活性は polymer type にしか認められていない(Kohashi ら)。

以上述べた実験成績を総合すると、結核菌細胞壁と Wax D 画分および諸種細菌細胞壁に含まれる PG 部分が関節炎誘起に必須の成分と考えられる。また以下の実験成績から PG 部分のうち一定の長さの glycan 鎖の繰返し構造が発症に特に重要であると考えられる。すなわち、1) PG 部分の glycan 鎖に作用し得る *Streptomyces globisporus* 酵素の作用で得られた PG subunits は「ア」活性をもつが関節炎誘起活性は認められず、また 2) Adam らが *M. smegmatis* 細胞壁にリゾチームを作用させて得た WSA も関節炎誘起力はみられなかつたこと、更に 3) 化学合成された数種の単純な構造をもつアジュバントにも関節炎誘起活性がなかつた (Kotani ら、Kohashi ら) 事実があげられる。これらの事実はまた、既述の通りアジュバントは関節炎の増強効果をもつとい

う意味で必要条件ではあつても十分条件ではなく、「ア」活性と関節炎誘起活性は別個の活性であることを示すものである。

発症に関与する構造に関して以上の通りかなり単純化して考え得るようになったが、関節炎誘起力をもつ pure な PG が果たして真に遅延型の抗原であるかについては今後更に検討を要するところである。本症の発症機序に関して Waksman らはラットの全身に播種された結核菌体成分に対する遅延型アレルギーを基盤として発症するのではないかとしている。われわれもこの説を支持する実験成績を得ているが生体組織中に菌体の関節炎誘起成分と類似の成分 (交叉反応性抗原) がないかどうかについて更に検討していきたい。

3. 空洞誘起物質

国立療養所刀根山病院 前田 秀 夫

結核性肺空洞を実験的に動物に高率に形成させる方法は、すでに山村教授らによつて開発されており、空洞誘起物質として結核菌体あるいはその菌体成分のリポ蛋白質が最も強力であることが明らかにされている。すなわち結核死菌体あるいはリポ蛋白質を、流動パラフィン・脱水ラノリン (4:1 容比) 混液を基剤として懸濁液とし非感作家兎肺内へ胸壁を通して直接注射するか、経気道的に気管支内へ注入するかすると、4 ないし 6 週間後に肺内に空洞の形成がみられる。

われわれは、この強力な空洞誘起活性を有する結核菌リポ蛋白質の化学組成を知ることと空洞形成機作の解明の一助とすることを目的として結核菌リポ蛋白質の精製を進めていった。

結核菌リポ蛋白質の分離

結核菌リポ蛋白質は、Folch & Lees の方法に従つて、菌体のクロロホルム-メタノール (2:1 容比) 混液抽出液に 7 倍容量の水を重層し 1 夜放置し上層の水層と下層のクロロホルム層との中間に生ずるリポ蛋白質層を集めてこれを凍結乾燥して用いた。

リポ蛋白質の分画精製

リポ蛋白質は更に次の方法によつてリポ画分と蛋白質画分とに分離することができる。クロロホルム-メタノール混液に再溶解し、Sephadex LH-20 のカラムを通過させるとリポ画分のみクロロホルム-メタノール混液で流出してくる。その後クロロホルム-メタノール・酢酸 (または塩酸) (100:50:1 容比) 混液で溶出すると、蛋白質画分が流出してくる。それぞれの画分は減圧

濃縮し、リポ画分は乾固させて後使用した。蛋白質画分は濃縮液を凍結乾燥して後使用した。

空洞形成実験

被験材料はすべて全量 3 mg を 0.1 ml の基剤 (流動パラフィン-脱水ラノリン-Arlacel-A 4:1:0.1 容比混合液) に懸濁し、家兎の左右の肺内にそれぞれ 0.1 ml ずつを注射し 6 週間後に剖検した。

極めて興味のあることには、リポ蛋白質をリポ画分と蛋白質画分とに分離してしまうとそのどちらの画分にも空洞形成能が認められなくなってしまうが、両画分を等量混合すると再び空洞形成能が発現してくることである。

山村らの研究で空洞は遅延型アレルギー反応によつて形成されることが既に強く示唆されているので、あらかじめ Freund の完全アジュバントを筋肉内注射して結核菌で感作してある家兎に、リポ蛋白質の蛋白質画分を既述の方法で肺内注射をすると、注射後 3 週間で空洞形成が認められた。すなわち非感作家兎では、蛋白質画分とリポ画分の共存が必要でありかつ注射後、空洞形成に 4 ないし 6 週間を要するが、感作家兎ではリポ画分は必要ではないことがわかる。このことから非感作動物に唯一回の肺内注射のみで空洞の形成を起こさせるには、イ) 感作抗原としての蛋白質とロ) その感作成立を促進または強化するアジュバント物質のほか更にハ) 感作成立後肺内でアレルギー反応を行うべき抗原を長期間保持せしめる補剤が必要であると考察される。このように考えると、リポ蛋白質の蛋白質画分は感作抗原および反応抗原としての抗原物質であり、リポ画分はアジュバ

ント活性物質を含み、基剤が抗原保持の役割を果たしていると推察される。

この推察が正しいとすれば、蛋白質画分を他の抗原成分に置換しても実験空洞はできる筈であり、またリポ画分を他の強力なアジュバント物質に置換可能のはずである。

そこでリポ蛋白質の蛋白質画分の主成分と同程度の分子量(後述)のペプチドである TAP (山村教授による Tuberculin Active Peptide) あるいは全く異なつた一般的な蛋白質である BSA とリポ画分によつて空洞形成実験を行つてみた。TAP や BSA のみを基剤に乳濁して行つた実験では、線維化した癥痕病変しかみられないが、リポ画分を共存させた実験群では予想通り空洞形成がみられた。

一方リポ画分を BCG-Cell Wall (金網史至博士から供与を受く) で置換して行つた実験では、BCG-Cell Wall 1.5 mg と蛋白質画分 1.5 mg とを混じて用いた群と、蛋白質画分なしで、BCG-Cell Wall 3 mg を用いた対照群としては、前者は肉芽腫に囲まれた空洞形成を認められるのに反して後者では大きな肉芽腫のみの病巣がほとんどであつた。

以上の種々の実験から結核菌リポ蛋白質の蛋白質画分はそれ自体のみでは感作能を有しないが、リポ画分や Cell Wall のような強力なアジュバントの共存により感作能を発揮すると考えられる。

リポ蛋白質の蛋白質画分の精製

前述の Sephadex LH-20 のカラムで分離した蛋白質画分を更に精製する目的で、この画分の水溶液を Sephadex G-50 のカラムを用いて分画すると、初めに流出してくる分子量の大きいほうの画分(以下A画分と略す)と、遅れて流出する小分子量物質の混合物(以下B画分と略す)とに大別することができた。リポ蛋白質の蛋白質画分の有する空洞抗原性はA画分のみ集中的に残存しており、B画分には存在しないことを明らかにした。

A画分を Sodium Dodecyl-Sulfate-Acrylamide gel 電気泳動で分析すると、分子量約 10,000 の糖ペプチドが主成分であり、他に分子量数万の蛋白質を微量含んでいる。主成分の糖ペプチドの糖質含量はフェノール硫酸法による定量では約 40% で炭糖のみよりなる。またこのA画分は結核菌であらかじめ感作してあるモルモツ

トで皮内反応をテストしてみるとツベルクリンに比してその活性は弱い、ツベルクリン活性をもっている。

脱感作による空洞形成阻止

結核性肺空洞は上述のごとく結核菌体蛋白質等の抗原成分が菌体のもつ多くのアジュバント活性物質の共存によつて動物を感作し、感作成立後、残存する感作抗原が反応抗原として働き、そのアレルギー反応の結果形成されてくるとすれば、逆に抗原成分による脱感作処置によつて空洞形成が阻止されるはずである。脱感作実験は次のように行われた。

加熱結核死菌体を基剤中に懸濁して既述の方法で家兎肺内に注射してから半数の動物には実験群として TAP の 2 mg ずつを毎週 3 回の頻度で静脈内注射して脱感作を行う。残りの半数は対照群として脱感作処置は行わない。6 週間後の剖検に先立つて血中抗体価の測定と、TAP および PPD による皮内テストを行う。また剖検後肺胞マクロファージを集め、TAP および PPD による遊走阻止試験を試みた。対照群では皮内反応は TAP および PPD に対してすべて陽性でありまた肺胞マクロファージの遊走も TAP および PPD によつて阻止され肺内空洞も多数の例で典型的なのがみられたのに反して、脱感作処置群では TAP に対しても PPD に対しても皮内反応はすべて陰性であり、肺胞マクロファージ遊走試験でも、TAP によつても、PPD によつても阻止は全くみられず、遅延型アレルギーがほとんど完全に脱感作されていることを示しており、空洞もほとんど認められなかつた。しかし血中抗体価は Arabinogalactan (阪大-東市郎博士から提供を受けた) を抗原として受身赤血球凝集反応による検定では、両群の間に有意の差は認められなかつた。

結 語

実験的肺空洞抗原としての結核菌リポ蛋白質の精製を行うことによつて抗原成分とアジュバント成分とに分画することができた。またそのそれぞれの成分を他の物質で置換した実験で各成分の役割を考察することができた。また脱感作実験で空洞形成には遅延型アレルギー反応が強く関連していることを確認することができるのと同時に、臨床治療への有力な示唆を与えるものといえる。

4. リン脂質抗原

北海道大学免疫科学研究所細菌感染部 佐々木 昭 雄

結核菌体リン脂質画分の抗原性については Boquet と Nègre 以来数多くの研究がなされているが、その免疫化

学的解析はまだ不充分である。高橋の考案した「カオリン凝集反応」の抗原は結核菌体全リン脂質で、少なくとも

も 12 の成分を含んでいる。主要リン脂質の 1 つであるホスファチジルイノシトールオリゴマンノシド (PIMx) は図 1 のような基本構造をもつ 1 群の物質であり、マンノース分子数は同じでも脂肪酸基の数がことなる成分も存在することが知られている。Subrahmanyam らおよび Pangborn らはリン脂質抗原の活性因子が数種の PIMx であると報告しているが、抗原画分の均一性に疑問があり、また血清学的活性が定量的に示されていないため、活性因子はこれら数種の画分に共通して存在する微量成分である可能性が残されている。そこで十分に精製した数種の PIMx を使い、リン脂質抗原とこれに対する抗体の性質を明らかにしようと試みた。

材 料 と 方 法

リン脂質：結核菌 H₃₇Rv 株のアセトン乾燥菌体より、熱メタノールによる抽出、Folch の 2 相分配とアセトン処理による精製を行い、全リン脂質画分 H-T とした。この画分に含まれる 12 以上の成分のうち、H-2~H-7 と名づけた 6 成分をおのおのが薄層クロマト上単一スポットを示すようになるまで精製することができた²⁾。化学分析の結果これらはすべて PIMx であり、図 1 に示した組成のものである。

血清反応：主に間接赤血球凝集反応（マイクロタイター法）により、一部はガラス板凝集法により行つた。前者の場合、各脂質はテトラヒドロフランを用いて生食水中に分散させ抗原液とした。後者の場合、結核菌リン脂質をレシチン・コレステロールとともにテトラヒドロフランに溶解したこと以外は梅毒反応 (VDRL 法) と同様

にして行つた。

結核血清は、BCG 生菌で繰返し感作したウサギ (3 羽プール)、H₃₇Rv 加熱死菌をアジュバントとともに 2 回筋注したウサギ (2 羽別々に採血) および結核患者より得た。

成 績

3 種のウサギ血清による反応で、6 種の精製リン脂質すべてに血球感作原性がみられた。2.4% 綿羊血球 1 ml を感作する最少脂質量は 1~4 μg であり、各脂質の間に大差はみられなかつた。しかし、これらに対する抗体価は必ずしも一定ではなく、3 種の血清はそれぞれ違つた抗体価パターンを示した。すなわち抗 BCG 血清の抗体価は H-7 と H-6 に対して 320、H-5 と H-4 に対して 80、H-3 と H-2 に対して 20 であり、抗 H-7 抗体価に比して抗 H-2 抗体価は明らかに低い (I 型)。これに対し、抗 H₃₇Rv 血清の 1 例は各脂質に対して大体等しい抗体価 (160~640) を示し (II 型)、他の 1 例においては抗 H-7 抗体価 (320) に比して抗 H-2 抗体価 (1280) は明らかに高い (III 型)。

このような 3 種の抗体価パターンは患者血清においてもみられた。いずれかの脂質に対して陽性反応を示した 28 例の血清において I 型 11 例、II 型 9 例、III 型 8 例であつた。いずれの場合も精製脂質に対する最高抗体価は抗 H-T 抗体価およびカオリン反応の抗体価とほぼ一致した。

間接赤血球凝集反応阻止試験では、血清、感作抗原、阻止抗原の組合せにより種々の結果が得られ、6 種の脂

図 1 結核菌 H₃₇Rv 株菌体全リン脂質の薄層クロマトグラムと PIMx の構造

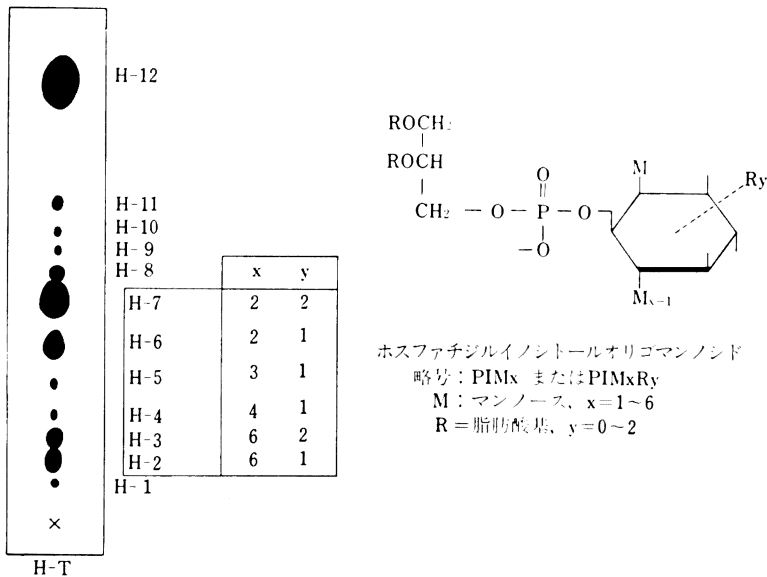
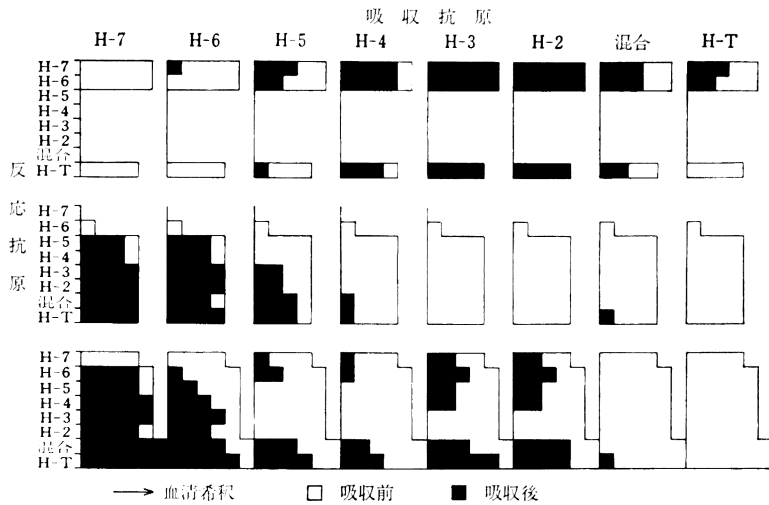


図2 吸収血清による感作赤血球凝集反応



質の間にある程度の交差反応性がみられた。例えばH-T感作血球の凝集は、I型ウサギ血清においてはH-4, H-5のいずれによつても特異的に、H-6によつて部分的に阻止され、H-2, H-3, H-7によつては阻止されなかつた。一方、III型ウサギ血清においてはH-2, H-3, H-4によつて阻止され、H-5, H-6, H-7によつては阻止されなかつた。

交差反応性をさらに解析するため、脂質感作血球による吸収を2回行った血清について残存抗体価を調べた成績を図2に示した。上段はH-7およびH-6とのみ反応する患者血清で、H-Tとも反応するがH-2からH-7までを等量ずつ含む混合抗原とは反応しない。この血清中の抗体はH-7, H-6によつて完全に、H-5, H-4, 混合抗原, H-Tによつて部分的に吸収され、H-3, H-2によつては吸収されなかつた。これと反対に、中段の患者血清はH-7, H-6に対して非常に低い抗体価しか示さず、この抗体はマンノース含量の多い脂質によつて吸収され、H-7, H-6によつては吸収されなかつた。下段はII型ウサギ血清で、その抗体はいずれの精製脂質によつても完全に吸収されなかつた。

以上の成績から、H-2側とH-7側には違う抗原決定基が存在すると考えられる。2種のPIM₆, H-2とH-3, は血清学的に区別できなかつたが、その他の脂質相互間には一部の血清で差がみられた。この差が2種の抗原抗体系の組合せによつて生ずるものか、3種以上の系によるものかを解析するためには、種々の濃度の脂質を適当に組合せた多重吸収が望まれる。しかし感作血球の系では溶血が起りやすいため、他のリン脂質抗原系で通常用いられているガラス板凝集反応を適用すべく、まず予備実験を行った。

反応はレシチンを加えなくてもみられたが、コレステ

ロールの自然凝集性をおさえるため多量のリン脂質抗原が必要であつた。レシチンを加えることにより反応に適當な抗原量は1/10に低下したが、レシチンの有無で抗体価に変動はなかつた。

患者血清によるガラス板反応において、血清希釈に従い強い凝集から急激に弱くなり陰性化する例と、弱い凝集が続いた後なんとなく陰性化する例がみられた。このような反応は脂質の混合比、反応液のpH、血清非働化の方法などを変えても同じであつた。一方、間接赤血球凝集反応においてもこのような凝集の強弱がみられ、従来は脂質抗原の特性あるいは血球の不安定さに由来すると考えていたが、少なくとも一部の成績はガラス板法における凝集の強弱と平行していた。したがつて、凝集の強弱は抗体側の親和力の差を表している可能性がある。

リン脂質抗原およびそれに対する抗体の特異性と親和力については、更に検討中である。

ま と め

結核菌リン脂質抗原の主要活性因子はPIM_xであることが確認されたが、活性因子は化学的に単一なものではなく、少なくとも6種のPIM_x成分に抗原活性がみられる。抗原決定基は少なくとも2種あるが、抗体については特異性の他に親和力のことなるものも存在するようである。

結核血清は精製リン脂質に対する抗体価パターンから3つの型に分けることができたが、臨床症状との関連はまだ明らかでない。抗原活性をもつPIM_x成分は結核菌に特有な成分ではなく、ミコプラクテリア一般および近縁の菌にも存在する³⁾。抗リン脂質抗体の臨床的意義を明らかにするためには、まだまだ基礎的検討が必要である。

文 献

1) 佐々木昭雄他: 結核の研究, 34 : 56, 1974.

2) Sasaki, A.: J. Biochem., 78 : 547, 1975.

3) 佐々木昭雄・有馬純: 結核, 50 (No.3) : 48, 1975.

—特別発言—

Cord Factor の免疫活性

大阪大学微生物病研究所 加藤 允彦

Cord Factor (CF) は、ミコバクテリアおよびその類縁菌種 (ノカルディア, コリネバクテリア) が産生する糖脂質であつて、その化学構造は1956年に6,6'-dimycoloyl- α , α' -D-trehalose と同定された。この物質はマウスに対して特異な遅延性致死毒作用を示し、*in vivo* および *in vitro* でマウス肝ミトコンドリアの膜構造の崩壊と、酸化的リン酸化反応の阻害を惹起する。このような毒性物質としての生物活性とともに、最近 CF のもつ免疫活性が種々の面から検討され、次のような性状が明らかにされている。

CF それ自身には抗原性はないが、このものとメチル化牛血清アルブミンのコンプレックスを Freund's incomplete adjuvant に加えてマウスおよび兎を免疫することによつて、CF に対する 19S IgM 沈降抗体が産生される。抗 CF 抗体は、CF の毒性を *in vivo* および *in vitro* で中和するとともに、マウスにおける結核感染を特異的に防御する作用を示す。

また CF を含む鉱物油を Tween 80-saline に *oil-in-water* エマルジョンの形に分散させて、マウスの静脈内に注射すると、肺に著明な肉芽形成が起こり、有毒結

核菌による感染だけではなく、ウレタンの腹腔内注射による肺アデノームの惹起も著明に抑制されると報告されている。さらに CF エマルジョンをマウスの足蹠に注射すると、注射局処の肉芽組織形成とともに、領域リンパ節内のリンパ組織の増生と食細胞の集積が起こり、羊赤血球や卵アルブミン等の抗原に対する抗体産生が著明に充進する。このようなマウスにおけるアジュバント作用のほか、ラットにおいては CF は卵アルブミンに対する遅延性過敏反応をも惹起する。

さらに CF およびその構造類似体 (trehalose dipalmitate, 6-mycoloyl glucoside 等) による前処置によつて、マウス腹腔内のエーリッヒ腹水癌細胞の増殖は著明に抑制されることが明らかにされた。また最近モルモットにおける結核菌細胞壁成分の抗腫瘍実験において、CF それ自身は無効であるが、細胞壁骨格構造 (Cell Wall Skeleton) や水溶性アジュバントなどの抗腫瘍作用が、CF の添加によつて著明に増強されることが明らかにされている。したがつて、ミコバクテリア菌体成分の抗腫瘍免疫誘導作用において、CF が特異なそして重要な役割を演ずると考えられる。

—特別発言—

ツベルクリン活性ペプチドの精製

大阪大学医学部第三内科 松尾 寿之

古く Koch によつて、結核菌培養濾液が皮内反応抗原性を持つていることが発見されて以来、結核菌体あるいはその培養濾液から純粋なツベルクリン活性因子 (「ツ」因子) を単離しようという試みは尨大なものである。

しかし、1934年、Seibert によつて、PPD (purified protein derivative) と呼ばれる比較的精製の進んだ「ツ」活性を有する蛋白質分画が得られたほかには、近年まで「ツ」因子の精製研究の進展は遅々としたものであつた。最近の蛋白質精製法の進歩、純度検定法の開発に伴い、結核菌体または培養濾液を対象とした精製の試みがなされているが、1974年永井らによつて、結核菌培養濾液から、Disc 電気泳動的に単一の「ツ」活性蛋白が単離された報告が特筆されるにすぎない。しかし、この蛋白

質の化学的な検討はまだなされていない。一方、同じく1974年、桑原によつて人型結核菌青山 B 株および BCG 菌体から PPD の 20 倍 (モルモット)、または 200 倍 (ヒト) の高い力価を有する蛋白質が精製され、その一次構造が決定されたという驚くべき報告がなされた。しかし、論文だけでは直ちに全面的に承服しかねる点もあり、今後の追試による再現性が確認される必要があろう。

これら「ツ」活性因子が熱処理など、一般の酵素蛋白質が失活するような条件に対して耐性を有することから、「ツ」因子は必ずしも native なコンフォーメーションを保持した蛋白質である必要はないと思われていたが、1960年、山村らは人型結核菌青山 B 株の脱脂菌体を 0.1 N HCl で 30~34°C, 3 日処理することにより、分子

量7,000以下という低分子ペプチドを得、これが PPDs とほぼ同等または1/2程度の「ツ」活性を有することを見出し、TAP (tuberculin active peptide) と呼んだ。

われわれは、TAP 中に含まれる可及的低分子のツベルクリン活性ペプチドの分離精製を試み「ツ」活性発現のために必要かつ十分な最小ペプチド単位構造を解明せんとしている。

TAP を 0.1M NaCl-0.02M acetate (pH 6.7) で抽出して得られる可溶部分 TAP-S を対象として、Bio Gel P-10, P-4, Dowex-1×2 などに分離を試みたが、構造類似のペプチド混合物のため、TAP-S そのままでの精

製は非常に困難であつた。TAP-S はトリプシン消化を行つても、「ツ」活性を失わないので、TAP-S のトリプシン消化物についての分離を行つた。Dowex 1×2 によるイオン交換クロマトグラフィーにおいて 0.01 M AcOH 溶出分画に明らかな「ツ」活性を認めた。この分画をさらにセファデックス G-25 ついでセファデックス LH-20 による分配クロマトグラフィーにより、モルモットを用いた皮膚反応において、2 mcg で PPD 0.5 mcg 相当の力価を有する分画を得ることができた。

本分画の化学構造を現在検討中である。

ま と め

座長 山 村 雄 一

結核菌は生化学的、免疫学的研究対象としてまことに興味深い材料であり、多彩な生化学的性状と生物活性を有している。本シンポジウムでは特にわが国においてなされた結核菌菌体成分の生化学と生物活性に関するいくつかのトピックスが上げられた。東によつて報告された細胞壁のアジュバント活性と抗腫瘍に関する研究は細菌アジュバントの作用機作についての興味深い知見であり、近年注目をあびつつある癌の免疫療法への応用の可能性を示したものである。古賀は Pearson により見出された結核菌によるアジュバント関節炎の発症機構を菌体成分のうえから追求したものである。佐々木は高橋により見出されたリン脂質抗原に関する生化学的、免疫

学的研究について最近の成績について述べた。前田はわれわれによつて見出された兎における実験的結核空洞は蛋白抗原と強力なアジュバントにより誘起された肺局所における細胞性免疫がその背景をなすことを明らかにした。特別発言で示された加藤による糖脂質の生物活性、松尾によるツベルクリン蛋白（ペプチド）抗原に関する研究は共に結核菌菌体成分の生物活性に関するユニークな研究である。

本シンポジウムで示されたいくつかの研究は結核菌菌体成分のもつ興味深い生物活性の1断面を示すものであり、今後免疫学研究の材料としての重要性がより認識されるものと思われる。

第50回総会シンポジウム

II. 結核臨床50年, その歩みと今日の問題点

第1部 B C G

座長 染谷 四郎
司会 橋本 達一郎

受付 昭和50年9月22日

The 50th Annual Meeting Symposium

II. PERSPECTIVE REVIEW OF 50 YEARS EXPERIENCES ON
CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL RESEARCH

Part 1. BCG

Chairmen: Dr. Shiro SOMEYA and Dr. Tatsuchiro HASHIMOTO

(Received for publication September, 22, 1975)

Fifty years have past since Dr. Kiyoshi Shiga brought back a strain of BCG from Pasteur Institute, Paris. Since then, various investigations have been made on BCG in Japan, and these studies contributed not only for the prevention of tuberculosis in Japan but also for the promotion of basic investigations in tuberculosis. In this symposium, a review was made on 50 years advances in BCG research and its application into the national tuberculosis control programme, and the results of BCG vaccination were evaluated.

Among various causes of death, tuberculosis had been occupying the top rank until 1950, and the top was replaced by apoplexia in 1951. Thereafter, the mortality from tuberculosis has been decreasing markedly, and it occupied the 10th rank among major causes of death in 1972. The numbers of persons vaccinated with BCG amounted to 30.4 million during the period from 1942 to 1949 by liquid vaccine, 53.3 million from 1950 to 1954 by lyophilized sucrose vaccine, 68.6 million from 1955 to 1966 by heat-stable glutamate vaccine, and 29.6 million during 1967 to 1973 by transcutaneous method, and altogether 182 million vaccinations have been performed during the past 30 years.

The prevalence of tuberculosis is assumed to show a continuous decline in the future, and the policy of BCG vaccination should be adjusted to the epidemiological situation of tuberculosis in the country, taking both advantages and disadvantages of BCG vaccination into account and making careful cost-benefit analysis.

Tuberculosis is still highly prevalent in many Asian countries, and experiences and results of BCG vaccination in Japan might be useful for these countries. Efforts must be intensified to increase the exchange of staff and to promote the medical cooperation with these countries in the field of tuberculosis control programme.

1. はじめに

筑波大学基礎医学系 橋本達一郎

わが国にはじめて BCG が渡来したのは1925年であるので、今日までまさに半世紀が経過した。この間、BCGの研究ははじめの20年の模索時代にわが国の結核予防対策の根幹となる基盤を築きあげた。BCGワクチンの効果と安全性が立証され、人体接種は副作用の軽減のため皮内注射法に到達し、戦後の乾燥BCGワクチンによるはなばなしい成果を迎えることになった。

わが国のBCG研究の特徴は、基礎、臨床、公衆衛生学の各分野の研究者が相次いで共同プロジェクトを立てて結集し、問題の解決に当たったことである。これによつて乾燥ワクチンの完成と検定、皮内接種の効果、最後には経皮接種による副作用の軽減が1つ1つ確立されてゆき、わが国の医療技術分野における最も大きな成果の

1つと目されるにいたっている。

この成果は国内の結核予防対策に大きな貢献をしたのみならず、開発途上国の結核予防にも寄与しつつあるところである。

しかし予防と治療の進歩によつてわが国の結核の様相は激変し感染率の著しい低下を招くにいたつた。この情勢に対応して現在BCG接種の今後を考えねばならぬ時期に達している。このシンポジウムは半世紀前は結核国といわれたわが国において、結核の予防にめざましい貢献をなしその使命を達成したBCG研究の半世紀の歩みを模索、成果、批判と展望の3面から眺めようと試みたものである。

2. 模 索

1) BCG 人体接種の研究の初期

大阪大学教授 堀 三 津 夫

昭和13年3月大阪大学医学部を卒業した私は、ただちに医学部附属病院第3内科医長故今村荒男先生のもとに入門した。

当時今村先生がもつとも力を入れられていた仕事は結核の集団検診とBCG人体接種の研究であり、これらの研究はまた極めてスケールの大きいものであつた。新生の私は早速これらの研究の手伝いを命ぜられた。

今村先生のもとでのBCGの研究は早くから行われており、ごく初期の実験的研究成績は、昭和2年第5回日本結核病学会総会での今村先生の宿題報告「結核“ワクチン”の予防的効力批判」(結核:6巻,7,8号,昭3)にまとめられ、その後もBCGの毒力および免疫原性について今村先生ならびに門下生によつて非常に多くの研究成績が発表されてきた。

今村先生は多くの動物実験成績に基づいて、BCGには恐るべき病原性は認められず、またある程度の免疫原性を有するとの確信から、門下生とともに昭和4年わが国で最初のBCG人体接種を乳児20名を対象として経口投与によつて試みられ、翌5年からは同じく乳児を対象としてBCG皮下接種が実施された。これらの成績は後に門下生西川為雄博士によつて「BCG“ワクチン”接種乳児の臨牀的観察」と題して発表された(大阪医事新誌原著版:昭12.2月)。

また同じく昭和5年から阪大病院の新人看護婦生徒に対してBCGの皮下接種が行われてきた。当時はツベルクリン(ツ)反応の実施方法、判定基準も一定されてい

ず、Pirquet氏反応、Mantoux氏反応、あるいは1,000倍または2,000倍旧ツ0.1ml皮内注射、などとまちまちではあつたが、いずれにしてもツ反応陰性と判定された看護婦生徒にBCGが接種され、接種量も0.01~0.05mgと区々であつた。その上ある年はBCG接種を実施し、ある年はBCGを接種せずして対照群とする、というような方法で、厳密な意味での対照はおかれていない(実験医報:17年,200号,昭6;19年,217号,昭8;20年,237号,昭9)。

それで昭和11年からは、ツ反応の判定に際して看護婦生徒を1列に並べて、ツ反応陰性者の1人にBCGを接種すると、次の陰性者はBCGを接種せず対照とする、というようにして、接種者と対照者を意識せずに交互に選んで観察することにした。このようにして昭和15年4月までのBCG接種者136名、BCG非接種対照者135名、ツ反応陽性者244名について、1.5~4年間観察した。その結果、結核発病者ならびに結核死亡者は、BCG接種者より発病17名(12.5%)、死亡0;非接種対照者よりは発病45名(33.3%);死亡9名(6.7%);ツ反応陽性者よりはそれぞれ44名(18.0%)、5名(2.0%)であつた。BCGの接種量は0.02~0.06mgであつた。この成績は理想的に対照をおいたものとして今日でも高く評価されている(大阪医事新誌:14巻,3号,昭18)。

更にまた、昭和8年から紡績工場女工手を対象としてBCGは下接種が実施されてきた)実験医報:20年,237号,昭9)。

このような背景のもとに、昭和13年から私もBCGの研究に参加した。昭和13年は日本学術振興会に結核予防第8小委員会が設定され、全国をあげてBCGの研究が実施されはじめた年でもあった。

紡績工場の女工手を主な接種対象として、当時の阪大微研竹尾結核研究部で調製されたBCGワクチンをひつさげてあちらこちらと皮下接種を行つて回つた。接種量は0.02~0.06mgであつた。

ところが昭和13年秋頃からBCG接種局所に難治性の膿、潰瘍の発生が目立ちはじめ、昭和14年になるとこれが多発し、ために昭和14年の春頃からBCG接種を一時中断し、もつぱら膿、潰瘍の治療にあたらねばならないことになつた。当時はSMのような強力な抗結核薬はなく、膿瘍はこれを切開して排膿した後リパノール液等で洗浄して軟膏を添付、潰瘍も同様な処置を施すぐらいのことであつた。この膿、潰瘍は容易に治癒傾向を示さず、局所を清潔にたもたないものではしばしば化膿菌等の混合感染がみられ、病変は炎症性に拡大し、所属リンパ腺の腫脹をはじめ、局所の発赤、疼痛を訴えるという状態で、この処置はなかなか厄介、また治癒に

長日月を要し、1年有余はこの処置に忙殺され、研究も何もあつたものではなかつた。

この膿、潰瘍の多発が検事局に投書され、また大阪の赤新聞に報道され、社会問題化しようとした。幸いにしてこの膿、潰瘍問題は刑事事件にはならなかつたが、昭和13年秋からの約1年半は今村先生とともどもに陰うつな時代であつた。

昭和15年秋より再びBCG人体接種の研究に取り組んだが、過去の苦い経験にこりて、BCG接種は皮内接種に切替えた。接種量は1カ所0.01mg、2カ所接種を原則とした。当時BCG皮内接種の経験はすでにWallgren, Heimbeckらによつて報告されていたが、私どもの成績でも接種局所の反応は極めて軽微で、ツ反応の陽転率も約90%と高率であつた(約35,000名についての成績)(結核:21, p.172, 昭18, 結核病学会総会報告)。

私どもはBCG皮内接種が非常に優れた方法と考えられることを今村先生に報告し、昭和16年からのBCG人体接種は全部皮内接種に切替え、日本全国でも皮内接種が一般に用いられるようになった。

以上がBCG人体接種の初期の頃の研究である。

2) 人体接種の効果と安全性

国立予防衛生研究所 柳 沢 謙

BCG接種が昭和23年に予防接種法施行規則に、また昭和26年に結核予防法施行規則に加えられ広く使用されるに至つた最も有力な研究基盤は、昭和13年4月から昭和18年3月の5年間にわたつた日本学術振興会第8小委員会(委員長:長与二郎, 委員:24名~36名)によつて行われた、結核予防接種に関する研究である。

私は本日はその報告書(昭和18年3月作成)に基づいて人体接種の効果と安全性について述べようと思う。

安全性:人体接種に先だつてすでにわが国で行われたモルモット、ウサギ、サル等による動物実験ではBCG10mg接種量までは主として皮下接種では接種局所リンパ腺以外の臓器には全く結核性の変化をみず非常に弱毒化された牛型結核菌であることが証明されていた。また人体接種では0.005~0.06mgを多くの研究者は皮下に接種していたが、時には接種部位に潰瘍や膿瘍ができることがあり局所リンパ腺もまれには膨脹することが触知された。接種局所に生じた膿から結核菌を分離して、その毒性を十数回にわたつて検査したがヒトを通過したことによつてBCGの弱毒性に変化を来すことはなかつた。この第8小委員会が昭和18年3月に終了するまでに約100万人の人が委員によつてBCG接種を主として皮下に受けているが、その中から接種局所のBCGによ

る結核性変化以外の結核症の発症を報告したものがなかつたということは、BCGの安全性がいかに高いかを立証するものだと思う。

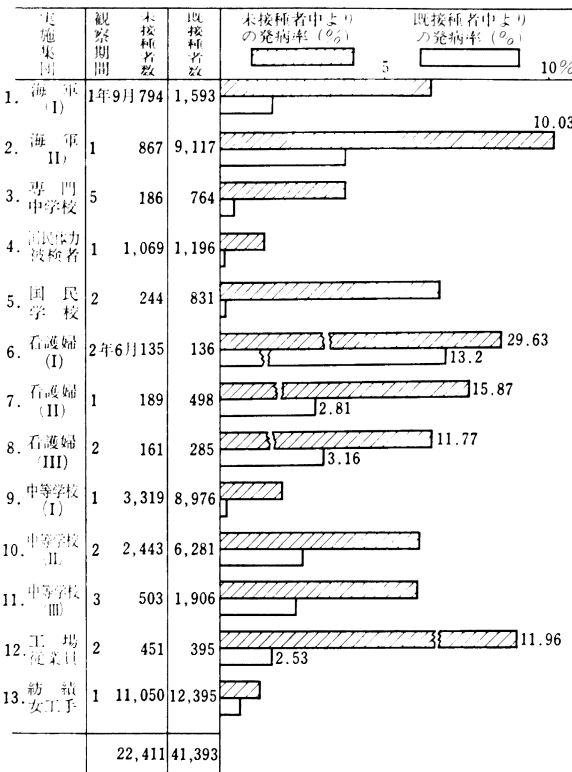
効果:人体接種成績によりBCGの効果を判定するには、少なくとも2方面からの観察が必要である。すなわち1つはBCG接種により結核発病または死亡を減じ得るかどうかの数的観察であり、他の1つはBCGの接種が発病した結核の病型にいかなる影響を及ぼすかの観察である。

昭和13年から昭和18年までに接種を受けた概数は先にも述べたように約100万人と推定されるが、BCG接種者とそれに対応する未接種者の対照をおいた研究集団は28集団にすぎず、そのうち、更に既接種者群と未接種者群とからの発病率、死亡率および発病者の病型別を比較して0.1%以下の危険率でその差を認められたものは、表1に示す13集団にすぎない(BCG接種者41,393人、未接種者22,411人)。

この表を通覧してわかることは、観察期間1年ないし5年のBCG既接種群からの結核の発病率は未接種群の発病率の1/2以下であることである。この資料の大多数の接種方法は皮下であり、接種量は0.005~0.06mgである。

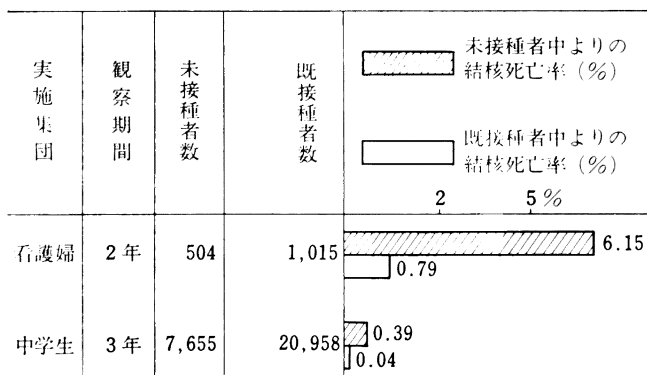
次にBCG既接種群と未接種群の結核性疾患による死

表 1 BCG 未接種者と既接種者よりの結核発病率比較



注：28 集団中，0.1%以下の危険率で有意差あるもののみをのせた。

表 2 BCG 未接種者の既接種者よりの結核死亡率比較



注：0.1%以下の危険率で有意差がある。

死亡率を比較するに当たっては、各委員の看護婦と中等学校生徒の資料を合併し、看護婦は2年間、中等学校生徒は3年間の観察期間と定めた。それを表示すると表2のごとくなる。すなわち BCG 既接種者からの死亡率は、未接種者のそれに比べて1/8以下になる。

最後に病型別による BCG 効果の比較を、看護婦を対象にした実施集団と中学生、工員兵員を対象の2つに大別して2年観察した。また病型も大別して(1)初期肺結

核症、(2)粟粒結核病および脳膜炎、(3)慢性肺結核病の3つに分けて比較した。表3にみるごとく BCG 接種により大体早期病変は、1/2~1/3に防止するに對して慢性型では1/7~1/10に防いでいる。この事実は結核の予防において極めて重要な点である。

以上のごとく BCG は人体に0.06 mg 以下の少量皮下接種においては接種局所および局所リンパ腺に何らかの変化があつても、早期に治療し内臓には何らの結核性疾

表3 病型別によるBCG接種効果の比較(観察2年)

| 集団 | BCG接種者数 | | 発病者病型 | 結核発病率 | |
|----------|---------|--------|---------------|-------|------|
| | 未 | 既 | | 未接種者 | 既接種者 |
| 看護婦 | 617 | 938 | 初期肺結核症 肋膜炎 | 5% | 10% |
| | | | 粟粒結核症 脳膜炎 | 5% | 10% |
| | | | 慢性肺結核症 | 5% | 10% |
| 生徒・工員・兵員 | 3,893 | 10,207 | 初期肺結核症 肋膜炎 | 5% | 10% |
| | | | 粟粒結核症 脳膜炎 | 5% | 10% |
| | | | 慢性肺結核症 | 5% | 10% |

患を認めていない。

BCGの結核予防効果については、1~5年の観察において発病を1/2以下にし、死亡は1/8に防止することが認められた。また発病者の病型からみてもBCG既接

種者のそれは未接種者のそれに比し初期結核症で治療するものが多く、慢性結核症に移行する比率は未接種者に比べ小さいといえる。

3) BCG ワクチンの実験的探索

東北大学抗酸菌病研究所内科 高 世 幸 弘

昭和13年東北大熊谷内科で、東大伝染病研究所より交付されたBCGワクチンを看護婦生徒、師範学校生徒に接種した。翌14年6月に伝研よりBCG菌株の譲渡を受けたが発育が悪かった。昭和15年独米留学から帰った海老名名誉教授が牛胆汁の希釈を示唆してから研究が緒についた。グリセリン馬鈴薯培地に加える牛胆汁は古くかつ希釈度の大きいほうが、最も発育良好で、25%前後の牛胆汁で菌苔が最も湿潤している。0.4%以下のNa. glycocholateでも発育は良く0.8~0.4%、Na. taurocholateではやや劣る。グリセリン牛胆汁馬鈴薯培地、グリセリンブイヨン馬鈴薯培地、グリセリン水馬鈴薯培地にそれぞれ継代したBCGを海寝の皮内、皮下に注射すると、胆汁加培地のものが、あるいは皮内法が皮下法よりツベルクリンアレルギーの出現が早い、1年後のアレルギーには差はない。胆汁加培地のものは注射局所変化は強く、家兔の前眼房内接種や脳内接種でも毒力は強く、馬鈴薯培地で胆汁の有無を変えて6代継代、またはロッケマン培地に2代継代してもこの差は変わらない。

昭和15年頃の液体ワクチンの調製は瑪瑙乳鉢手摺法で、分散媒は生理食塩液で、氷室保存でも数日で生菌数が著しく減少した。5%グリセリン水、4倍ソートン液、

4倍キルヒネル液や各種糖液の中では5%マンニット水氷室保存が10日以上生菌数があまり減少しないことがわかった。昭和18年抗酸菌病研究所が竣工した。生菌検定には岡・片倉培地が用いられたが、その後小川培地のほうが優れていることがわかり、培地製造に3日を要したものが小川培地では1日で完成するので、手軽に行えるようになった。海寝の静脈内接種で肺、脾、肝、腎、リンパ節の順でBCGが培養されること、同じBCG接種後の陽性アネルギーでも1/2~1/10mg接種では免疫力が残るが、1/100mgでは残らないこと、BCG接種直後に人型菌感染を行っても対照と同様か、やや軽度の変化しかないとわかった。

生菌検定の希釈に生理食塩液を用いると塩凝集を起こし、温度が高いときも凝集し、生菌単位数の減少が起こること、液ワクでも後の乾燥ワクチンでもソートン培養7~10日が最も適することが生菌検定の結果判明するようになった。調製法はその後超音波法が行われ、昭和22年から水晶球入りコルベン手振り法が始められた。

液ワクでは培養による生菌検定前に、接種せねばならぬので、ワクチンの力価を早く知るためにBCGの酵素活性の研究が盛んに行われた。ゼレン酸塩・テルル酸塩還元、ウレアーゼ、カタラーゼ、硝酸塩還元、乳酸脱水

素酵素、アミノ酸分解酵素で、抗酸菌株の鑑別に用いられる成績は得られないが、BCG ワクチンの検定には、ウレアーゼ pH 法、カタラーゼ法は 1~2 mg の菌量の場合、脱水素酵素・硝酸塩還元酵素、ウレアーゼ NH₃ 法は 10~20 mg の菌量に適しており、Warburg 検圧器による呼吸作用は 100 mg 内外の菌の検定に適している。

戦後凍結乾燥の研究は、試作した Flosdorf-Mudd の改良型で始められた。-8°~-195°C の間では凍結による障害は少なく、温度とは比例しないこと、外界温度を 10°C 以下に保つほうが生菌の減少が少ないこと、1~2 % ペプトンが分散媒としてよいことが判明した。液ワクと違った観点から分散媒の研究が盛んに行われ、血清・ペプトンは優れているが、人体接種には糖類の中で蔗糖が用いられた。昭和 28 年頃グルタミン酸ナトリウムが耐熱性保存に優れているといわれたが、当時われわれは蔗糖ワクチンのほうが耐熱性でも優れている成績であった。これはグルタメートワクチンが、乾燥しにくいため

で、十分に乾燥しないものは、よく乾燥した蔗糖ワクチンに劣るものであった。

乾ワクの含水度の測定はアブデルハルデン法では、数 mg のアンプル 10 本くらいの内容を合わせて測ることになるので、個々のアンプルごとの含水度を測るために、硬質硝子製の気相圧法による含水度測定装置が作られた。この測定法では、アンプル内の空気重さを、アンプル容積・室温・気圧から計算することになるので、これを省くために、後には真空内で秤量できる装置を作るようになった。この気相圧法測法装置と真空箱内天秤装置を組合わせたものが、科学技術庁の研究費で作られ、日本 BCG 研究所内におかれてある含水度測定装置である。BCG の電顕的研究はメソゾームの発見に、BCG 接種動物の血清蛋白の変動、感作赤血球凝集反応、全血内結核菌阻止作用、白血球食菌作用、沈降反応、網内系細胞賦活作用、シリカによる増殖などの研究は BCG と癌免疫の研究に続いて行つた。

3. 成 果

4) 生ワクチン・皮内接種の時期

国立泉北病院 河 盛 勇 造

学術振興会第 8 小委員会において、BCG 人体接種の有効性が確認された後も、ほぼ同じグループによつて、BCG に関する研究が続行され、またワクチン供給源としての役目が果たされてきた。

むしろこの頃から、戦時中の結核予防対策の第 1 として、BCG 接種が取上げられるに至つて、ワクチンの需要は急速に増加したのである。昭和 18 年末頃、結核予防会から出されている“結核予防 (BCG) ワクチン実地調査成績報告書”についてみても、結核予防会結核研究所と、その依嘱によつて北海道大学有馬教授、東北大学熊谷教授、大阪大学今村教授、九州大学戸田教授の各教室から、BCG ワクチンが供給され、接種後のツ反応陽性転化が検査されている例のみを集計しても、すでに 6 万人を越えていたのである。

その後、終戦をはさむ数年間は、物資不足、交通至難の時期であつたにもかかわらず、BCG 生ワクチンの供給が、各研究施設を中心に続けられてきた。当時の状況については、正確な記録が残されていないが、私が知り得ているところでは、戦後間もない時期において、全国 8 カ所の施設がこれを担当されていたと思う。

学振小委員会での予防効果検討の対象となつた接種例の大部分は、皮下注射によつたものであつたが、接種が多人数に行われるに伴つて、皮下膿瘍の形成頻度が増し、かつその治療に長期間を要したため、種々な問題を引き起こすに至つた。このような膿瘍形成を防ぐため、

皮下接種が皮内接種に転換されたのである。

BCG の皮内接種は、すでに Wallgren が 1928 年に報告しており、その後も比較的少人数を対象とした接種経験の発表があつたが、わが国での皮内接種採用は、前述の通り副作用に対する配慮から出たものであつて、その時期は昭和 15 年頃であり、多くの研究グループでほぼ同時に試みられたのであつた。昭和 17 年 4 月の日本医学会総会講演で、今村教授は当時大阪、東北、九州の各大学で皮内接種を用いていることを述べておられ、また柳沢博士が 1951 年に書かれた History of BCG Program in Japan 中には、1940 年以降皮内接種が用いられたと記されている。

学振小委員会以後、BCG の研究は戦後の文部省科学研究費による総合研究結核班 (班長: 今村教授) の予防接種分科会 (会長: 熊谷教授) および日本 BCG 協議会 (会長: 柳沢博士) などに引き継がれたが、皮内接種の方法、ことにこれを 1 カ所に行うべきか、2 カ所または 3 カ所に分割するべきか、などについて、極めて活発な論議が交わされ、検討が続けられた。

また終戦後米軍の占領下に予防接種法が公布され、BCG も生ワクチンを無検定のまま人体に用いることの不合理性が指摘されるとともに、保存に耐える乾燥ワクチンの研究が進められるに至つたのであるが、その間も生ワクチンによる皮内接種が行われ、それによつて乾燥ワクチンの検定基準決定に寄与する研究成績が提供され

た。

すなわち個々の BCG ワクチンロットについて、その生菌単位を定量培養によつて算定し、これと人体接種後のツ反陽転率との関係を追及する作業が繰返された。その成績は、主として公衆衛生院の染谷、興両博士によつて集計され、その結果、80%の陽転率を期待するには20万生菌単位の接種が必要であり、また60%の陽転率を得るためには、12万単位以上を要することが明らかになった。これらを基として、生産者危険率、消費者

危険率などを考慮した BCG ワクチン力価検定基準が算出されたのである。

以上の通り、生ワクチン皮内接種時代は、学振小委員会で BCG の有効性が確認された後、現在の乾燥ワクチン時代に移行するまでの間、特に終戦前後の混乱時期でありながら、接種の実務が続けられるとともに、貴重な研究が行われていた点で、忘れられてはならない時期といえよう。

5) 乾燥 BCG ワクチンの進歩

日本BCG研究所 澤田哲治

河盛博士の述べたごとく、BCG の接種効果がワクチンの生菌数と相関することがわかり、乾燥ワクチンの研究は生菌数が高くて保存性のよいワクチンを作ることにしぼられてきた。

さて生菌数の高いワクチンを作るため、まず BCG のソートン培地上における growth phase の研究が行われた。

BCG の growth phase は lag phase, logarithmic phase, stationary phase と分かれ、生菌数の最高の時期は logarithmic phase の終期から stationary phase に移行する付近にあり、培地の pH は最高のアルカリ性から酸性側に移つて間もない時期である。この時期の BCG は凍結乾燥に対する抵抗性が最も高いことが見出され、この知見は生菌数の高い乾燥ワクチンの製造に貢献することとなった。

なおこの時期は培養温度が一定であつても、BCG の inoculum および培地量によつて多少の推移をするが、inoculum と培地量を一定にすれば毎回ほとんど同時期に最高の生菌数を含む BCG を採取できる。

次にこの時期の BCG より液体ワクチンを作り凍結乾燥に移るのであるが、急速凍結による菌の死滅は菌液に適当な分散媒、例えば、食塩、糖類、アミノ酸等を加えれば、防ぎ得るので、問題になるのは乾燥による菌の障害である。

通常菌の乾燥に当たつては、菌周囲の水分、すなわち free water (自由水) が除かれていく間の菌に対する障害は少なく、菌が障害を受けて死滅するのは菌体内部の水分、すなわち bound water (結合水) が乾燥によつてとられていく時期と考えられている。

BCG の乾燥の際どこまで水分をとつたらいいかを明確にすることはなかなか容易でないが、経皮用ワクチンの生菌数が段階的に減少する点を見ると、被乾燥体の含水度が Abderhalden 法で3%ないし4%付近にあるようである。

しかし乾燥をどの点でやめたらいいかという問題は、乾燥直後の生菌数のみならず、保存中生菌数が最もよく保たれることを考えて決定しなければならない。

経皮用ワクチンの乾燥度を示す含水度と菌の生残率の関係は、被乾燥体の含水度6~7%以下では乾燥が進むにつれて生菌数が少なくなつていくことを示している。

これらの乾燥ワクチンを37°C、4週保存して菌の生残率をみると6%および7%の含水度のワクチンは必ずしもよくない。

1%以上4~5%まではほぼ同様の保存性を示すが、1%以下では保存性が悪い。1%以下に乾燥されたものは乾燥直後の生菌数も低く保存性も悪い。

以上述べた通り、ワクチンの含水度が保存性に関係するが、ワクチンの保存性に最も効果を示したのは分散媒の研究である。

はじめパスツール研究所ではブドウ糖を、また日本ではブドウ糖、乳糖、蔗糖の比較研究から蔗糖を菌液に添加して乾燥ワクチンを作つていたが、これらのワクチンは低温保存では著明な生菌の減少を示さなかつたが、高温保存例えば37°Cで1カ月後生残率10%以下を示した。そこで多種の多糖体、蛋白、ポリペプチド、アミノ酸、合成ポリマー、塩類およびそれらの混合物を添加して菌液の凍結乾燥を行い、高温における保存性をしらべた結果、グルタミン酸ソーダが実際使用上最も優れたものであることが認められた。

蔗糖ワクチンとグルタミン酸ソーダワクチンの37°Cにおける保存性と、人体接種におけるツ反陽転の比較は平行することが示された。更に多数の皮内用および経皮用グルタミン酸ソーダワクチンの長期保存性をしらべてみると5°C、5~10年で65% (1年で85%)、25°C、1年で50%、37°C、1カ月で60%、45°C、1カ月で30%の生残率である。

現在の乾燥ワクチンは以上のごとき耐熱性を有するが、直射日光および室内光によつて障害を受け、更に復

液後はその程度が大きい。しかしこの障害はアンプルを黒紙でカバーするか、着色アンプルを用うることによって防ぎ得る。

最後にワクチンの製造に当たって、WHOは仮にBCGのmutationが起ころうとも、確実なBCGのseedから12代の植継ぎ以内であれば安全であるとして、いわゆる

seed lot systemをとることを推奨しており、日本では日本およびWHOで数年かけて*in vitro*、動物および人体で確認された菌株Tokyo, No. 172の一定ロットのワクチンを、seed lotとして毎回植継ぎ12代以内でワクチンが製造されていることを付記する。

6) BCG ワクチンのコントロール

国立予研結核部 室 橋 豊 穂

昭和23年(1948)に予防接種法に規定された結核予防接種は、翌24年から、乾燥BCGワクチンを用いて全国に施行されることになった。これは液体ワクチンから乾燥ワクチンへ切替えて量産する態勢が、この時点までにはほぼ整い、従来の液体ワクチンに比べて遙かに保存性が優れ、ワクチンの安全性や力価などの必要な項目を時間をかけて十分検討したもののみを全国に限らず提供することが可能となったからである。

BCGワクチンの検定は昭和24年6月から開始され、これに必要な基準は厚生省告示207に示されている。その後研究とともにワクチンの製法は絶えず改良され、検定基準もこれに伴い逐次新知見を加えて数次の改訂を経て今日に至っている。

昭和27年(1952)まではわが国はアメリカ軍の支配下にあり、検定基準も検定成績もすべてGHQのチェックを受けねばならなかった。当初アメリカNIHのBCGワクチン製造・検定基準草案が示されたが、これは液体ワクチンのものでわれわれの基準に加えるべき点はほとんどなかったと記憶する。当時凍結乾燥に関して参考とすべき文献はほとんどなく、外国との交流も絶たれたままで、フランスやソ連の凍結乾燥BCGの消息がGHQを通じて断片的に伝わつたにすぎない。そこで日本独自の立場で研究を推進する必要を感じ、昭和24年9月に日本BCG研究協議会を結成して、乾燥ワクチン製造条件、特にBCGの培養日数、ワクチンの媒質、乾燥後の力価保存条件などの検討や、人体接種量とツ反応陽転率との関係、すなわち人体におけるdose-responseなどに研究の重点がおかれた。その研究成果はStudies on dried BCG vaccine (Nov. 1952)にまとめられている。更に文部省総合研究班によつてそれ以後の成果が、Recent investigations on BCG vaccine (March, 1954)にまとめられた。

BCG接種が充足して程なく、「BCG有害論」が提起され、それを巡つて激しい論争が参議院を舞台にひろげられたが(昭和26年)、これを契機として、接種局所の皮膚損傷を軽減するための術式が検討されて、皮内接種から経皮接種へ転換のための研究に拍車がかけられ

た。

BCGワクチンの検定が始められた初めの数年間は、無菌試験不合格が相当多かつた。これは、電気事情などの社会施設関係の条件以外に、当時の製造や検定の設備の不完全さあるいは操作の未熟さなどが大きく原因していたように思う。またワクチンの力価を製造ロットごとに著しく動揺して力価不足のための不合格も少なくなかつた。BCG研究協議会で進められた研究はこの点に関して極めて重大な寄与をなした。なかでもBCG培養日数と凍結乾燥抵抗性との関連を明らかにした知見は、乾燥ワクチン製造の根底をなすものであり、常に高い生菌数を維持せしめるような条件を見出した意味で特筆に値する。またBCGのmediumとして初めは蔗糖が用いられたが、昭和30年頃からglutamateがワクチンの耐熱性を高めることが確認されて、全面的に蔗糖に代えて用いられ、以後ワクチンの保存性は著しく改善された。

BCGワクチンの力価は含まれる生菌単位数で表わされる。基準原案では、0.1 ml中にBCG 10^{-4} mgを含むごとく希釈して培地5本に接種し、4週培養後1本当り50コロニー以上を生ずることが規定された。しかし程なく、1接種量(0.04 mg)中に生菌単位数12万コ以上を含まねばならぬと改められ、最終乾燥製品1仕切から抽出したアンプル10本をそれぞれ希釈し、0.1 mlに1接種量を含むごとくにし、これを 10^{-4} に希釈して培養し、培地10本中7本以上に12コ以上のコロニーを生ずることが合格条件とされた。

しかし、BCG研究協議会で86 lotsの乾燥ワクチンを人体に接種した成績を集めて、ツ反応陽転率と接種生菌単位数との相関をしらべたところ、接種1カ月後に80%程度の平均陽性率を期待するには1接種量当り20万コの生菌単位数を必要とすること、当時の合格基準12万コでは60%の陽転率しか期待しえないことなどがわかつた。そこで基準限界として平均陽転率を80%におき、品質管理方式によつて計算し、逐次抽出法による力価検定方式が設定された。この新しい検定方式採用以後、製造条件の改良と相俟つて、ワクチンの力価は明らかに向上するとともに均一性を増すに至つた。昭和42年(1967)

以後は経皮接種（管針法）に変わり、濃厚なワクチンが用いられるが、本質的に違いはないので、皮内用ワクチンで設定された力価検定方式をそのまま準用している。

わが国の BCG 菌株は Pasteur 研究所から分与（1925）されたものの継代保存株である。1965年に WHO によ

り乾燥ワクチン No. 172 が国際標準に指定された。以後わが国では Tokyo No. 172 を凍結乾燥して保存し、これから seed lot system によりワクチンを製造している。この方式により培養菌の性状が安定するので、lot 差を少なくするうえに重要な措置といえよう。

7) 皮内接種から経皮接種へ

兵庫医科大学第三内科 宝 来 善 次

わが国における BCG 接種の初期の様相、人体接種の効果と安全性、実験的效果など基礎的なことが回顧され、BCG の結核予防に関する効果が十分認識された。戦後になって BCG 液体ワクチンから凍結乾燥ワクチンへの研究が完成された。昭和 23 年に予防接種法が制定されて、結核予防には BCG ワクチンが採用された。昭和 24 年から BCG 凍結乾燥ワクチン 0.05 mg が皮内接種法により、全国一斉に広く実施されるようになった。その成績に関してはすでに諸家によって報告されている。

ところがこのような広範囲にわたる BCG 皮内接種法は接種技術者の不慣れもあつて接種局所に大きい潰瘍を発生する頻度が高くなつてきた。その潰瘍は数カ月から 1 年にわたり残存するものがあるので社会的問題として論議をかもすようになった。接種局所における大きい潰瘍発生という副作用を防止することが考慮されるようになり、昭和 27 年度、28 年度に岡治道先生を班長とする BCG 接種研究協議会において、皮内接種と経皮接種の比較研究が行われ、経皮接種では大きい潰瘍を発生することなく局所の副作用がはなはだ軽微であることが明らかにされた。しかし、結核発病予防に対する効果を知るには月日を必要とするので経皮接種が応用されないまま経過した。その後、各種感染症に対する予防接種の副作用の問題などが各方面で喧ましくいわれるようになってきた。したがって BCG 皮内接種の接種局所の副作用に関しても注目されるようになった。そこで日本 BCG 研究所が中心になつて昭和 38 年から BCG ワクチン製法の研究と併せて経皮接種の研究が展開された。

ここにおいて厚生省は昭和 40 年度に「結核予防接種方式の改良に関する研究」を要望するにいたつた。演者がこの研究班の班長に選ばれ全国の BCG 研究者と共同して、新たに考案された 9 本管針 2 カ所接種の経皮接種の研究が展開された。

研究方法としては、接種対象として乳幼児、学童のツ

ベルクリン反応陰性者を選び、既往の BCG 接種の有無によつて初接種群と再接種群に分けた。BCG ワクチンは日本 BCG 製造株式会社製の経皮用凍結乾燥ワクチン (80 mg/ml) を用い、その 1 ml 懸濁液を注射器により 2 滴を左上膊外側皮膚上に滴下し 9 本管針により 2 カ所 18 コを接種した。比較対照として皮内接種法による接種群をおいた。

研究成績としては、接種 1~2 カ月後ならびに 4~7 カ月後のツベルクリン反応および局所変化を観察した。ツベルクリン反応陽性転化により接種効果が類推でき、局所変化により副作用が判定できる。1~2 カ月後のツベルクリン反応陽性転化率は 33.2~99.2% であり、局所変化は膿胞、痂皮を示すが、皮内接種に比してはなはだ軽微であつた。4~7 カ月後のツベルクリン反応陽性率は更に高く、局所変化も癩痕または針あとを残すのみであり、皮内接種に比して軽微であつた。この結果から 9 本管針 2 カ所の経皮接種の効果はツベルクリン反応陽性転化率と局所変化からその有用性が認識された。続いて 9 本管針 2 カ所強押しの際皮接種が実施された。2~3 カ月後のツ反陽性率は平均 78.5% であり、局所変化は一部痂皮を示すが、ほとんど癩痕を示し、皮内接種に比してはなはだ軽微であり、9 本管針 2 カ所強押しの際皮接種の有用性が確認された。したがって昭和 42 年 4 月から 9 本管針 2 カ所強押しの際皮接種が結核予防法に規定されるようになった。

以上 BCG 皮内接種から経皮接種への改良に関与したものの 1 人として述べたが、結核発病予防効果に関しては言及できない。しかし BCG 経皮接種の結核発病効果はその後各方面で報告されている。わが国では結核予防はなお重要な課題であるので、現行の 9 本管針 2 カ所強押しの際皮接種を一層有効に駆使できることと同時に、BCG 研究、その他結核予防の研究が更に展開されることを望む次第である。

8) BCG の 経 皮 接 種

——主として BCG 接種定期化の研究から——

結核予防会結核研究所・鹿児島県徳之島保健所 高 井 鏡 二

BCG接種定期化研究委員会(委員長 岩 崎 龍 郎)

I. 結核対策としての BCG 接種の歴史的概観

48年実態調査によれば全国民の58.5%はBCG既接種であり、5～35歳の既接種率は80%以上であつた。この高い既接種率を得るために実施されたBCG接種総数は1億6千万回以上と推定され、既接種者では1人当たり3回余の接種を受けたことになる。年度別接種数の推移から前駆期(昭和17～24)、Mass Campaign期(昭和25～29)、維持期(昭和30～現在)の3期に分けることができる。昭和48年の接種数は403.9万人であつた。このような3期の変遷には結核の疫学事情、ワクチンの開発進歩、接種法の改善、行政努力の影響が大きかつた。経皮接種は昭和42年実施段階に入り、その後数年間は一時的な接種数の増大がみられた。年間接種者中の乳幼児の割合は昭和29年以後次第に増大し、昭和48年には39.4%を占めるようになった。しかし0～4歳児に対する実施率の地域差は大きく、東の十大都市では高率であるが他の地域では良好とはいえない。

全国画一に接種が実施される現在ではBCGの予防効果を正確に観察することはできないが参考資料として既往BCG接種有無別結核有所見率(昭和48実態調査)および年間結核罹患率(昭和43実態調査、追跡調査)がある。

昭和49年6月結核予防法が改正され、いわゆるBCG接種の定期化が実現した。

II. BCG 接種定期化委員会の調査研究

委員会(委員長:岩崎龍郎)は昭和45年より48年まで国の委託を受けた12都道府県市の協力により一連の疫学的研究を行つた。その一部を報告する。

1. 市町村で実施されている乳幼児を目標としたBCG接種プログラムとその目的達成度

調査地区内64市町村のアンケートによると、BCGプログラムは(1)一般住検と同時にまたは(2)保育所、幼稚園で実施することが多い。0歳、3歳、就学前等の一定年齢にしばつたプログラムは市または町ではみられたが村では実施されていなかった。プログラムは1種類だけの場合もあるが、2種類以上の併用が普通で3種類以上の併用は少なくない。

対象児に対するツ注率、ツ判定率、必要な者へのBCG

接種率を相乗して得た集団のBCG接種実行度は実施中のプログラムの数の多少よりは自治体の形態(市町村の別)との関係が深く、また自治体の人口規模ではなく住検受診率との関係が強く、保健所単位にまとめてみるとその関係は一層明瞭であつた。10mm以上のツ反応の割合で示される集団の免疫はBCG接種実行度の高い保健所管内でより良好であつた。

2. 初回BCG接種の時期と1人当たり接種回数

12都道府県市の24小学校へ昭和46年に入学した児童の入学前BCG接種状況を調査した。43.1%が0歳で、17.5%が1歳で、5～3%がそれ以上の各歳で初めてのBCG接種を受け、入学前の累積既接種率は81.8%に達していた。学校別の観察によると、入学時の既接種率は0～3歳の既接種率が左右し、それ以上の年齢での接種の寄与は少ない。

入学前のBCG接種の回数は未接種者も含めると1.7回、既接種者だけでは2.1回であつた。また昭和45年の中学3年生についての調査では、小中学校在学中の接種は接種しなかつた者を含めると1.6回、在学中に接種があつた者だけでは2.2回であり、就学前に7回、在学中に9回接種を受けた者もみられた。

3. 3年間にわたる実験的BCG接種集団の観察結果——経皮接種は定期化できるか

(1) 1, 2, 3年目のツ・アレルギー

昭和45年に市販BCG(同一Lot)の経皮接種を受けた幼児1,462名と小学生の1,302名が追跡調査を完了した。

ツ反応発赤径の平均値は1, 2, 3年と増大し、度数分布曲線は右方に移動し、特に30mm以上の大きな反応の増加は著明であり、10mm以上の反応の割合(いわゆる陽性率)も減少せず、集団の免疫が低下するとは考えられなかつた。

個々の例についてみるとツ反応が増大する者減弱する者半ばしたが、はじめにみられた反応の近くで増減する傾向が強く、とびぬけた変化を示すものは少ない。このようにBCG接種後のツ反応の変動は小さくないので個人々々について自然陽転のチェックやBCG再接種のためのスクリーニングに当たつては慎重でなければならぬ。

(2) BCG接種後の局所反応

5~7日、3カ月、1年後の局所変化を観察した。3カ月後には痂皮をのこしているものはかなりみられるが、潰瘍等の組織損壊があり、障害となるものは極めてまれである。針痕も認めない者はわずかであった。1年後には3カ月に比して癩痕のない者、平坦な癩痕のある者が増加した。ケロイドではないがわずかのケロイド様癩痕は幼児0.3%、小学生0.9%に、凹凸癩痕は幼児6.3%、小学生14.6%にみられた。

(3) 接種後の局所変化とツ・アレルギー

接種後1年のツ・アレルギーは、1年後の局所にみられる針痕の数と関係が深く、針痕の数が多ければ大きなツ反応が、針痕の数が少ないと小さいツ反応がみられる。

上述の関係は個々の症例について、また集団についてもあてはまるが、2コ以上の集団の集まった保健所別にみても成立する。

(4) 定期 BCG 接種の運営と評価

BCG 接種の集団に及ぼす結核発病予防効果は、1) 初接種の時期、2) 既接種率、3) ワクチン懸濁液の接種以前の菌量、4) 接種手技によつて大きな影響を受ける。接種が定期化される以前には以上4点のチェックは十分行われなかつた。今後の定期接種の運営では1)、2)のような行政評価と3)、4)のような技術評価と、得られた結果の実施歴へのフィードバックが中心的な仕事とならなければならない。

初接種年齢は、副作用、免疫賦与の難易、広範な実施の難易を論外とすれば、生後早い時期に行うほうが効果

が大きいことはいうまでもない。少なくとも保育所、幼稚園、小学校等の集団生活に入る前に高率に接種を終わり、集団結核の発生を防がねばならない。小学入学時に行う全員のツ反応検査では既接種者、未接種者を区別し、初接種年齢と既接種率を明らかとすることが必要である。

小学校1年生へのBCG接種は、0~4歳での実施もれに対する補完的な接種である。中学2年生へのBCG接種は主として免疫の低下した個体に追加免疫を与えるのを目的としている。小学校2年生、中学校3年生で前年度にBCG接種を受けた者に行うツ反応検査は使用ワクチンの力価と接種技術の評価にあたるものであり、集団のツ・アレルギーレベルが期待値を下回る場合には接種局所の針痕の数をしらべ、ワクチン、接種技術の評価を行い、結果を直ちに実施面に反映させなければならない。集団として十分免疫があると考えられれば少数のツ反応陰性者に再接種を行う必要はないが、何らかの原因で免疫が不十分であればいわゆるやり直し接種をしなければならない。

BCG 接種の記録は従来は十分生かされていたとはいえ種々問題を起こしてきたが初回・再接種を問わず一連の記録票に銘記保持し、その後の結核管理、胸部疾患の診断に役立てなければならない。以上のような運営により接種数は減少し、資材、労力は節約されるにかかわらず一層大きな効果が期待できるものと信じている。

4. 批判と展望

9) 日本のBCG接種の疫学的評価

愛知県がんセンター研究所疫学 青木 國雄

疾病対策の疫学的評価は、あるPopulationにおける疾病の頻度分布や質的变化が、対策の前後で、時間的空間的にどのようになるかを数量的に測定することにより可能となる。近年Computerの登場とともにSimulation Analysisが可能となり、過去の疾病疫学像の解析や、将来予測が容易となつたことや、Cost-Benefit, Cost-Effectivenessの概念が導入されて、疫学的評価が幅広く利用されるようになった。

BCG接種の場合は、医療面では新発生患者の減少、ひいては感染源の減少による感染率の低下、経済面ではBCG対策に要する費用と、患者減少による医療費の節約のバランスから対策を評価することができるが、更にBCGの副作用、予防接種に伴う心理的な影響、更には休業による生産力の低下までも包括して評価しようという動きがでてきている。

ここでは、わが国の20年間のBCG接種の効果を(1)

患者減少、(2)医療費に及ぼした影響、(3)今後のBCG対策の地位、について考えてみたい。

(1) BCG 接種による患者の減少

全国各地の小規模の集団でいくつかのすぐれた業績があるが、治療法や公衆衛生面での他の対策の効果と区分しえない面があるので、日本全国を対象に、いくつか条件をおいてBCG接種の効果を検討しようとした。すでに第45回本学会総会で発表したWaalder modelを改変したEpidemio-metric modelを利用し、昭和28年以降の結核実態調査成績や人口動態資料に基づき、わが国の結核まん延状況をSimulation Analysisによつて検討、昭和48年までとその後に分けてBCGの効果を推定した。このmodelは昭和28年から始められたが、現実に近い姿には再構成できず、やむなく結核減少期に入つた昭和33年からスタートさせた。昭和33年までには、約

5,800万回の BCG 接種がなされ、全国民の38.2%が既接種と報告されているので、罹病率の高かったこの時代を除くと BCG の効果は低くなるが、昭和33年までの BCG 接種効果は0として、昭和33年の疫学的条件が得られたと仮定し、以後現行どおりの BCG 接種が行われた場合と、全くなかった場合で比較することにした。なお BCG 接種者の発病予防効率は50%とした。

結果: Simulation analysis では昭和33年の有病者300万から5年ごとに約35%ずつ減少し、昭和48年には80万となる。感染率は治療の効果もあつて5年ごとに50%ずつ低下しているようである。BCG を昭和33年以降実施しなかつたとすると、昭和48年までに少なく見積つて220万人年、多くみつめると400万人年をこす患者の増加があることになる。もし BCG の予防効率が80%に上ると、更に50%近くも患者は減少する。年齢別では、BCG 接種率の高い年代が著しく低率となり、昭和48年で50歳以上の低接種率群と著しい差がある。この15年間の減少傾向もこの年齢層で差が生じている。

(2) BCG 接種の Cost-Benefit

Cost-Benefit の考え方はいくつかあるが、ここでは BCG 接種に要した費用と、BCG 接種により減少したと考えられる患者の医療費とのバランスからみてみた。

BCG 接種は、昭和26年から47年まで21年間に、約1億4千万回実施されており、この各年度の費用に年率5%の利率を付加してみると約75億円となる。昭和33年から47年の15年間では約53億円である。一方患者1人当りの医療費は、45年の厚生省予防課の年間結核医療費を、その年度末の活動性登録患者数で除した16.9万

円を基準とし、毎年5%ずつ上昇するものとして減少した患者数に乘じ、それに年率5%の利子を付加して算出した。昭和48年で220万の患者減少があつたとすると総医療費は2,215億円となり、BCG 接種費用とは2,000億円以上の差となる。BCG 接種後の副反応として、長く続く潰瘍1%、軽い副反応が10%以内とされており、重い副作用は非常にまれである。そこでここ15年間の8,000万回の予防接種で80万人の潰瘍に患者医療費の1/6、800万人の軽い副反応に1/24の費用を見積ると、平均患者医療費15万円として200億と500億円であり、100人以下と推定される重症者に100億円要したとしてもなお1,200億円以上の節約ができたことになる。この額はわが国のこの15年間の年間結核医療費を上回るものである。

(3) 今後の BCG 接種

昭和43年の疫学的条件のまま BCG 接種を中止しても、他の条件が不変であれば患者減少に及ぼす影響は極めて少ない。これは感染率、発病率が低下したため BCG の効率が悪くなるためである。BCG 中止の時期が問題となるが、この将来予測では BCG 以外の条件が全く変わらぬ仮定があり、低下したとはいえ感染率が0.2~0.3%で、また有病者に占める空洞保有者の割合が高い現状では、漸進的な変革と、その評価を続けながら中止の時期は決定されるべきであろう。

今後の BCG 接種の効果は high risk group でのきめ細かな観察や、BCG 接種群での病型、罹病期間、発病率の前向きな検討によりなされる必要がある。

10) BCG 接種の副作用

結核予防会結核研究所 島 尾 忠 男

Rouillon と Waaler は、BCG 接種の際にみられる副作用の種類と頻度を次のように総括している。

| 重さ | 種 類 | 頻度(被接種者10万人対) |
|----|-----------|---------------|
| 軽 | 遷延する潰瘍 | 1,000 |
| | 広汎な潰瘍 | 1,000 |
| | ループス様反応 | 100 |
| | リンパ節腫脹 | 5,000 |
| 中 | 化膿性リンパ節炎 | 100 |
| | ループス | 0.5 |
| 重 | 骨髄炎 | <0.1 |
| | 全身性BCG感染症 | <0.1 |

(第22回国際結核会議報告)

接種局所にみられる潰瘍、あとに残る癩痕に最も大きく影響するのは接種の深さであり、ワクチンが深く入るほど潰瘍は大きくなり、持続期間が長くなり、ひどい癩痕を残す。接種に従事する者が多岐にわたる日本では、すべての接種を浅く皮内に止めることは實際上不可能で、かなり高率に潰瘍やケロイド発生などがみられていた。多年の研究によつて管針を用いる経皮接種法が開発され、昭和42年4月から行政的に採用され、結核予防法に基づく BCG 接種はすべて経皮接種に切替えられた。この結果 BCG 接種をめぐる最も多い苦情であつた潰瘍と癩痕の問題は解決された。

ループス様反応も潰瘍がなくなることによつて解消した。

リンパ節の反応は、従来から日本で用いられている

BCG 株ではほとんど経験されていない。接種を新生児期に行うと、リンパ節の腫脹が多くみられることが知られている。日本では初接種が通常3カ月以降に行われていることも、リンパ節の反応の少ない理由の1つであろうが、新生児に接種を行った場合にもリンパ節腫脹はほとんどみられていない。したがって化膿性リンパ節炎も実際上問題になつたことはない。

ループスは日本では3例の報告があるのみである。局所あるいは全身性の抵抗力の減退に関連して発病すると考えられているが、予後は良い。

重大な副作用としては骨髄炎と全身性の BCG 感染とがある。骨髄炎はフィンランド、スウェーデンなどの北欧諸国からの報告が多いが、その原因としては接種が新生児期に大腿上部に行われることが考えられる。接種側の大腿骨に多いので、接種局所の皮下の膿瘍から BCG がそのまま骨に到達するものが多いのであろうが、全身あるいは局所の抵抗力の減退時に血行性播種があつて起こるものもある。化学療法や外科療法に対する反応は良く、予後は良好である。日本でも2例の報告がある。

全身性の BCG 感染は、接種後全身の種々の臓器に生じた BCG による小結節が、通常は自然に消退するのが、全身的な抵抗力の減退があるときに活動性になるために起こるものである。先天的な免疫機構の欠陥、ことに細胞性免疫不全のある場合に発生してくる。全世界でこのために死亡した例が20例近く報告されており、日本でも1例の報告がある。北欧諸国に比較的多くみられるのは、接種が新生児期に行われ、免疫不全のある例に接種される機会が多いためであろう。

一般的にみるなら、BCG 接種はあらゆる予防接種の中で最も安全な接種といつてよく、ことに経皮接種へ切替えたため、潰瘍やひどい癩痕もほとんどみられなくなり、今回の定期化によつて、反復再接種に伴う問題も事実上解決された。

結核管理の将来の方向として、サーベイランス体制の確立が強調されているが、BCG 接種後の異常反応の発生を把握することもその中に加えて、適切な対策を講じることができるような組織を作つていかなければならない。

11) BCG の免疫学的考察

九州大学医学部細菌学教室 武 谷 健 二

BCG の結核予防ワクチンとしての貢献はいうまでもないが、基礎医学的観点からみても、BCG による感染防御の研究が結核におけるアレルギーと免疫の問題、感染症における細胞性免疫の研究などに果たした役割を忘れることはできない。すなわち結核における細胞免疫を担うのは感作リンパ球であり、この感作リンパ球と結核菌抗原との特異的結合によつて、種々のリンホカインが放出され、このリンホカインのはたらきによつてツベルクリン反応が出現する。一方、細胞性感染防御免疫においても、リンホカインによつて活性化されたマクロファージ内での結核菌の増殖抑制が主体をなすものでないかとの考えが強い。しかし、移植免疫においては遅延型過敏症による感作リンパ球と標的細胞破壊による感作リンパ球とは分化を異にするのではないかとの考えもあり、結核における細胞性感染防御免疫の本体については、なお今後の検討にまつところが少なくない。事実、BCG 生菌免疫と死菌アジュバント免疫とを比較すると、ツ・アレルギー発現能力は後者が強いが、感染防御免疫は前者

が強く、ツ・アレルギーと感染防御免疫とは解離する傾向がある。またこの事実は同時に生菌ワクチンの細胞性感染防御免疫誘発における重要性を示している。更に最近 BCG のもつ免疫賦活化作用、すなわち T 細胞の活性化を中心とする免疫系の活性化、特に細胞性免疫の強化作用を腫瘍の治療に応用しようとする多くの試みがなされていることも、BCG に今後結核以外の広い応用範囲のあることを示すものと考えられる。

一方、最近特定の抗原に対してそれぞれ対応する免疫応答遺伝子 (Ir-gene) の存在が明らかにされつつある。従来から問題となつていたいわゆる BCG 難陽転者の問題もこの免疫応答遺伝子という観点でもう1度検討することによつてその本態の一部を明らかにしうるかもしれない。また島尾博士の述べられる BCG の副作用の症例についても、全般的な細胞性免疫能力の低下した例は別としても、もし一般的な免疫能力の低下を特に認めない症例があるとすれば、これについては免疫応答遺伝子の立場から検討を要するものと考えられる。

5. BCG の乱切および乱刺接種法について (追加)

日本BCG研究所 朽木五郎 作

私が BCG の乱切法の研究を始めたのが昭和22年で、当時結核予防会結核研究所の細菌部長であられた柳沢謙先生のおすすめによるもので、その成績は昭和23年の本学会総会で報告しております。

その後昭和35年、1本の針を用いて種痘のように狭い範囲に集中的に傷を与えるいわゆる「集中乱刺法」を検討していた際、その局所反応が皮内法に近い強い反応を示すことからヒントを得て、円筒で囲った針を垂直に押したら、針が皮内に深く入りすぎることなく、誰にでも上手下手なくできるだろうと考え、1本の針を金属の細い円筒(内径5mm、外径8mm)で囲ったものを試作しテストした結果、針は太いもの(0.7mm)より細いもの(0.2mm)が表皮を突き破るのによく、針の尖端は円筒の縁と同一平面にあるものが使いよく、また刺傷の数が多くなるほどツ反応陽転率が高くなることがわかり、昭

和36年報告しました。

その後円筒内の針の数を3本、4本、9本、16本と増やして検討しましたが、内径18mmの円筒では、針の数を16本にしますと、針間隔が2.5mm程度になり、集中乱刺と同様局所反応が強くなることがわかり、針の数は9本が限度で、針間隔は4mm以上が適当であることがわかりました。また円筒の径を更に大きくしますと押したときに左右の圧力の差が出て、つき方にムラが出てしまいます。

円筒の材質は初めステンレス・スチールでしたが、重い上に煮沸消毒後冷めにくいという欠点がありましたので、現在のようなプラスチックに変わりました。

ただいま宝来先生よりご報告のありました管針法の成績は、以上のような経過で作られた管針を用いての成績です。

6. ま と め

国立公衆衛生院 染谷四郎

志賀潔が BCG をパスツール研究所からわが国に持ち帰ってから、本年でちょうど50年になる。それ以来、多くの研究者によって BCG に関する研究が行われ、わが国の結核予防に大きな貢献を果たしたが、同時に結核の基礎的研究の発展にも大いに役立つことは、本日の各演者の講演によって明らかである。本シンポジウムでは BCG の研究とその実用化について50年の歩みを回顧し、その成果を評価することにし、将来の問題点についてはここでは触れないことにしたが、これからの学会の場で十分検討されることを期待したい。

わが国の結核死亡は昭和26年に死因順位の第1位を脳卒中に譲つて以来、減少し続け、昭和47年には第10位に下がった。この間国民のうち BCG ワクチンの接種を受けたものは昭和17~24年(液状ワクチン時代)3,040万人、昭和25~29年(乾燥ワクチンに切替えた後)

5,330万人、昭和30~41年(耐熱性ワクチン時代)6,860万人、昭和42~48年(経皮接種以後)2,960万人、合計1億8,200万人に達することが予想されるという。

わが国の結核の蔓延度は今後とも減少していくことが予想されるが、その疫学的条件に最も適当した効果的な BCG 接種の方式を研究し、また BCG ワクチンのプラスの効果だけでなく、ワクチン接種に関連するマイナスの効果についても十分配慮し、慎重な cost-benefit analysis を実施して、将来の BCG 接種はどうあるべきかについて十分検討を加えることが重要である。また同時にアジアの国々には現在なお結核に苦しんでいる国が少なくないので、わが国の結核予防に果たした BCG の実績と経験を生かして、これらの国々との交流を今後盛んにし、その結核対策の実際活動の推進に協力することが必要であると思う。

第 50 回 総 会 シ ン ポ ジ ウ ム

II. 結核臨床50年, その歩みと今日の問題点

第 2 部 化 学 療 法

司 会 前 川 暢 夫
今 野 淳

受付 和和 50 年 9 月 12 日

The 50th Annual Meeting Symposium

II. PERSPECTIVE REVIEW of 50 YEARS EXPERIENCES ON
CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL RESEARCH

Part 2. Chemotherapy

Chairmen: Prof. Nobuo MAEKAWA and Prof. Kiyoshi KONNO

(Received for publication September 12, 1975)

As it is extremely difficult to make a full review of advances in research for chemotherapy, presentations and discussions were focussed mainly on present problems of chemotherapy for tuberculosis, through which it was intended to find out the future direction of investigations.

During the 50 annual meetings of the Japanese Society for Tuberculosis, very few fruitful results were obtained in the former half of the meetings in spite of big efforts made by our predecessors. It was the 26th annual meeting of the Society held in 1951 when the first reports were presented on streptomycin and PAS. Thereafter, the chemotherapy for tuberculosis has shown a splendid progress.

In the present symposium, the following topics were reported; the present status of bacteriological examinations for tubercle bacilli in laboratories and its quality control, the fate of tuberculous cavity, indication for hospital treatment and its duration, the optimum duration of chemotherapy, comparison of various regimens of chemotherapy based on the relapse rate, chemotherapy for intractable pulmonary tuberculosis such as cases with diabetes, cases requiring the use of steroid and cases with primary drug resistance, and the side-effects of anti-tuberculous drugs and how to overcome them.

Through these reports, present problems of chemotherapy were made clear, and it is hoped that further research works will be made in the future based on the above findings which contribute to solve tuberculosis problems not only in Japan but also in many developing countries with difficult background factors.

司会にあたって

京都大学結核胸部疾患研究所 前川 暢 夫
 東北大学抗酸菌病研究所 今野 淳

このシンポジウムの主題に会長が意図した所はよく表現されているが、化学療法という範囲に限つても50年の回顧と将来への展望とを同時にみだすことは容易ではない。演者の方々と協議した上で司会者としては、むしろ「今日の問題点」に重点を置いて討議を進め、そのなかから将来への展望を得たいと考えた。

顧ると大正12年の第1回日本結核病学会総会以来、結核治療学の進歩は多くの先達の貴重な努力にもかかわらず、少なくとも前半は誠に遅々としたものであつた。ストレプトマイシンやパス等の真に臨床的に有効な抗結

核剤が登場して化学療法時代の夜明けを迎えたように思えたのは昭和26年、第26回総会のとときであつたが、それ以後の結核化学療法の急速な発展を考えると誠に感慨深いものがある。

幸いに演者ならびに発言者の方々のご努力によつて、各方向からの「今日の問題点」に関する成績が以下にまとめられるような形で集積された。

これらの成績を踏石として、今後は日本ばかりではなく広く海外の多様な社会的条件下の結核の問題に対して寄与できるように進みたいものとする。

1. 細菌学的立場から

国立公衆衛生院 川村 達

緒言

化学療法の進歩は、結核症における臨床細菌学的諸検査の意義を、改めて確認せしめたのであるが、応用の場においてのその実態は不明な点が多い。

そこで療研は、細菌学的研究科会を中心とする下記のごとき一連の調査研究を実施し、問題点を探り、改善への寄与を行おうとしたのである。

各調査研究の方法・成績および考察

1. 結核の臨床細菌学的諸検査に関する現状のアンケート調査

1972年版病院要覧により、昭和45年12月現在の結核病床が20以上の国公立病院から病床数別抽出率を定めて467施設を選定し、調査用紙を昭和49年9月に配布した。この4年弱の間にかかなりの結核病床の減少などもあつて、回答を得られたのは239施設(51.1%)となり、これについて、施設の種類の別、病床数別の集計を行ったのであるが、その成績の要点は本誌50巻3号の予稿集にやや詳細な記述を行つてあるので、本稿では紙数の制約を考慮し省略したい。

2. 結核菌薬剤耐性検査の精度管理に関する協同研究
 前項の調査に現れた各施設の耐性検査の信頼度は、医師からみて、「時に疑問あり」が13.8%、「不安定で困る」が1.3%にすぎず、かなり高い信頼を得ていたのであるが、その培地は8割強が市販品に頼る状況になつており、約3/4の施設は、その精度管理に関する研究が実

施されれば参加する意志を表明された。

そこで、関東一円の42施設の参加を得て、10剤感性菌1株、多剤耐性菌2株を配布し、各施設の10種の薬剤

表1. 参加各施設の耐性検査成績の薬剤別評価(普通法)

| 薬 剤 | 施設数 | ◎ | ○ | △ | × |
|-----|-----|----|----|---|----|
| SM | 28 | 13 | 9 | 5 | 1 |
| PAS | 28 | 18 | 8 | 2 | |
| INH | 28 | 16 | 9 | 3 | |
| KM | 28 | 12 | 8 | 3 | 5 |
| VM | 27 | 4 | 13 | 5 | 5 |
| CPM | 23 | 6 | 9 | 2 | 6 |
| RFP | 28 | 8 | 6 | 3 | 11 |
| EB | 28 | 13 | 9 | 5 | 1 |
| TH | 28 | 8 | 2 | 2 | 16 |
| CS | 27 | 12 | 8 | 3 | 4 |

表2 参加各施設の耐性検査成績の総合評価得点の分布

| 総評価得点 | 合価点 | 普通法 (28施設) | | | | 拡散法 9施設 |
|-------|-----|------------|----|----|----------|------------|
| | | 施設数 | 国立 | 公立 | 私立 大学 | |
| 20~16 | | 5 | 2 | 1 | 1 | 3 |
| 15~11 | | 8 | 2 | 4 | 1 | |
| 10~6 | | 4 | | 3 | 1 | 1* |
| 5~0 | | 1 | 1 | | | 2 |
| -1~-5 | | 5 | | 3 | 1 | 1* |
| -6以下 | | 5 | 1 | 2 | 1 | 2 |

* は一次薬普通法、二次薬拡散法の施設

についての検査成績を集計し評価した。表1および2はこれを総括的に示すものである。

表1の、◎は3菌株の成績が正常範囲にあつたもの、○は正常範囲をやや逸脱する成績のあつたもの、△はやや異常な成績を示したもの、×は著しく異常な成績を示したものであつて、表2の総合評価得点は、◎を2点、○を1点、△を-1点、×を-2点として、全薬剤の得点を合計したものである。

薬剤別では、PAS および INH が最も良く、SM および EB がこれに次ぎ、RFP および TH が最も悪く、それらの日常検査の成績はしばしば有害でさえあり得ることが示された。

総合評価得点では、満点の20点であつた1施設をふくめてかなりの高点を得た施設がある反面では、マイナス6点以下の施設も必ずしも少なくなく、これは国立療養所が比較的上位に分布したほかは、施設別にも、また拡散法でも、大同小異の分布を示すことが明らかとなつた。

この協同研究の詳細は別に報告されるが、上述のごとき著しい懸隔は、使用培地の質の問題と、各菌株の接種菌量・発育速度・培養期間などの諸因子の動的関連に対する理解の深浅によるものと考えられる。担当者に対する適切な指導を行うとともに、日常検査の精度を随時容易にチェックし得る Microtiter 法のごとき簡便な検査法への移行がなければ解決し難い問題であろう。

3. 結核菌検査室において過去5年間にみられた結核発病の調査

前記アンケート調査において、結核菌の検査に従事している技術者総数は332名で、過去5カ年間の結核発病者が41名を数えたため、その該当施設に対しさらに個人調査票を送つた結果、返信なし4名、5年以前と訂正などの不該当となつたもの7名、5年以内の発病ではあるが結核既往歴ありのもの7名を除く、23名が5年以内の新発病者と考えられた。

表3は発病者と、その母体である従事技術者の総数とについて、性・年齢別の数を示すものである。

表3 検査室における5年以内の結核発病者の性別年齢別分布

| 年 齢 | 男 | | | 女 | | | | |
|----------------|-----|------|-------|-----|------|------|-------|------|
| | 20代 | 30代 | 40代以上 | 計 | 20代 | 30代 | 40代以上 | 計 |
| 発病者数(A) | 3 | 6 | 3 | 12 | 8 | 3 | 0 | 11 |
| 技術者総数(B) | 41 | 50 | 135 | 226 | 53 | 26 | 27 | 106 |
| (A)/(B)×100(C) | 7.3 | 12.0 | 2.2 | 5.3 | 15.1 | 11.5 | 0 | 10.4 |
| 年間発病率 | 1.5 | 2.4 | 0.4 | 1.1 | 3.0 | 2.3 | 0 | 1.5 |

注：年間発病率はおよそその数値として、(C)/5を掲げた。

これによつて明らかなように、発病者の9割弱が20歳代ないし30歳代の若年層によつて占められ、技術者総数の約半数を占める40歳代以上は3名にすぎない。

発病者中、BCG接種を受けていないものは4名のみで、過半は3~4回以上の接種経験を有すること、発病までの従事期間が2年以内であるものが過半を占めることなどからみても、この分野に新たに参加する若い技師に対する万全の配慮が不可欠であるのは明らかである。

うち2名については公務災害に認定されていることが明記されていたが、業室感染の危険を重視している施設はむしろ少ないようである。昭和43年から48年に至る追跡実態調査(厚生省)によれば、15~45歳の発病率が男女とも0.06%程度である。したがつて疫学的には、技術者の発病がほとんど業室感染によるものとみることにも不自然ではない。

従来、ややもすればなおざりにされがちであつた検査室の安全に関する設備、装置の改善は、操作上の工夫と並行して、急を要する問題といわねばなるまい。

結 語

以上の調査ならびに研究は、それぞれの課題に関する緒を開いたものとしての価値をお認め頂けるものと考えられる。学会員各位が、それぞれの立場における検討を開始されることによつて、結核対策の核である化学療法の基礎としての臨床細菌学の向上が図られることを期待するものである。

—特別 発 言—

国立療養所銀水園 篠 田 厚

臨床的耐性の基準は、化学療法に対する期待の程度によつて異なる。臨床的耐性基準と薬剤効果との間に、常に100%の相関を期待するならば、必要以上に低耐性の意義が強調されることになり、不必要に厳格な基準を作る恐れを生じてくる。しかし耐性基準を薬剤選択の最大の拠り所とする以上、耐性基準とその薬剤の効果は、少なくとも80~90%以上の相関にあることが望ましい。そ

のためにはどの程度まで低耐性を考慮するのが妥当であろうか。

いわゆる population method で得た臨床的耐性の限界線(杉山)から、各薬剤の完全耐性濃度を求めると、SM 10, INH 0.1, PAS 1, KM 30, TH 20, CS 20, EB 2, RFP 5 mcg/ml であり、かねてからわれわれは PAS および TH 以外は、現行医療基準より更に低濃度での

耐性を重視すべきであることを提唱してきた。更に検査指針に準じた耐性検査成績と臨床効果との関連についてみた結果からも、完全耐性ではやはり INH 0.1, KM 30

～50, EB 2.5, RFP 5 mcg/ml を基準とするのが適当と考えている。

—追加発言—

検査室内感染の危険

結核予防会結核研究所 島尾忠男

川村氏の検査室内感染の危険の指摘に対して追加する。結核感染を経過した個体は、結核に対する強い免疫をもっているため、通常の外来性再感染では発病しない。結核患者と接触し、外来性再感染の機会が多い結核療養所の医師、看護婦などの既感染者について、1950年から72年までの年間発病率は0.15%で、接触の機会のない事務職員の発病率0.32%より低い。両者に有意

差はない。一方検査室職員の発病率は1.34%と高く、他職種の発病率との差は有意である。大量の菌を取扱う環境では、免疫があつても外来性再感染で発病が起こりうることを示しており、乾燥した菌はフードの中で取扱うなど、検査室内の安全措置について一段と厳重に注意を払う必要があることを示している。

2. 結核性空洞の運命

結核予防会結核研究所 岩井和郎
国立公衆衛生院 柳川洋

1. 化学療法の効果に関する基礎的検討

化学療法の効果に関する生体側の因子としては、最高血中濃度と試験管内最低発育阻止濃度の比、薬剤の病巣内滲透性、細胞内の菌に対する効果などが関係する。空洞においては、これら菌に対する薬の直接的作用は菌数の減少を来すが、同時に洞壁肉芽の毛細血管新生と充血、それからの好中球浸潤による乾酪物質の軟化融解が、洞内結核菌の排除に促進的に働き、両者相まつて洞の治癒過程が進行する。

しかし時には、増殖力の弱い、薬の効き難いと思われる少数の菌が洞内に残存し、一方洞壁肉芽の active な反応も減退し、少量の乾酪物質と少量の菌および萎縮性肉芽をもつ、空洞が出現する。菌陰性空洞といわれるものの多くは、このような薬の作用下における菌と生体との戦いの一種の膠着状態にあると考えられ、残存する結核菌の生死ないし生活力が、将来の悪化に関連して問題となる。

切除肺病巣の培養の成績は、その意味で大きな示唆を与えるが、かつて全国諸施設の約3,500例の成績をまとめた報告では、排菌が1年以上陰性を続けている空洞例からも、病巣培養で20%以上に菌を培養でき、菌陰性空洞における化学療法の効果の限界を示すと考えられた。

しかしこの成績は、SM 週2日・INH・PAS の3者併用を標準的治療とする時代のもので、化学療法が初回から強化され、RFP も加わった今日においてそのまま受取るわけにはゆかない。最近の症例について、この点を

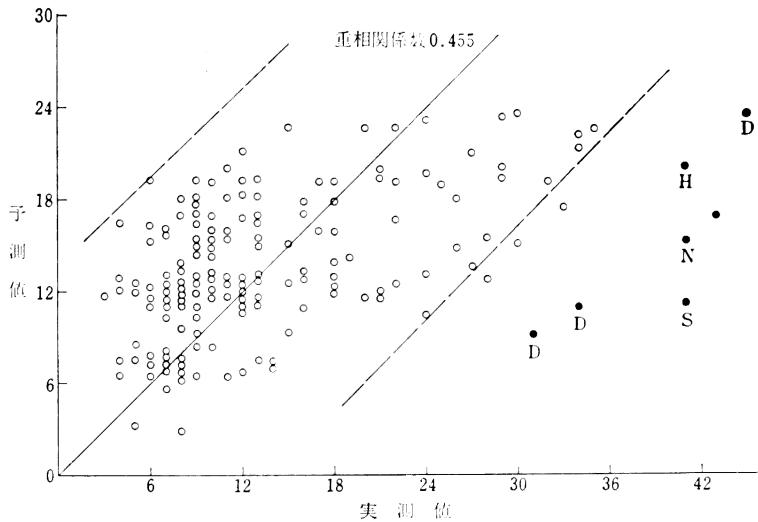
再検討すると、SM 毎日の強化治療を含む一次剤のみの治療群では、排菌陰性が1年以上続いている空洞で、16.7%に培養陽性を示していたが、RFP 使用群では、6カ月以上排菌陰性が続いている14例中全例が、空洞が残存しているにもかかわらず、培養陰性であった。RFP 使用群の大部分が、一次剤ないし二次剤に耐性出現のために RFP を含む治療に切替えた、条件の悪い症例であつたにもかかわらず、高率に空洞内菌培養陰性を示した点が注目される。この成績は、少数例の所見ではあるが、もし初回に十二分に強力な治療が行われれば、早期に洞内結核菌を死滅させ、治療期間を極めて短縮させる可能性のあることを示している。

2. 空洞に対する化学療法の効果予測

化学療法の効果に関する研究は枚挙にいとまがないが、いずれも患者を集団として観察した成績であり、それを個々の例に還元して、個々の例の治療開始時に、その治療効果をどこまで予測できるかという研究はほとんど見当たらない。そこで初回治療、単個空洞例を対象として、まず空洞1コの経過に及ぼす諸因子の影響の強さを排菌の推移も含めて検討し、それに基づいて治療効果の予測ができるか否かを検討した。

〔方法〕治療開始時の因子として、性・年齢、発見動機、赤沈値、ツ反応、合併症、深町分類、排菌量、化学療法の種類と規則性、学研病型、空洞内径と厚さ、形、肋膜癒着、洞と肺門との距離、周辺散布巣の粗密をとつた。更に2カ月後の排菌状況、X線基本型と空洞径、厚

図 目標到達までの期間の予測値と実測値（洞型、内径、強力剤数、2カ月後の洞径変化の4項目をとつたとき）



注 対角線から上下に等間隔にとつた幅から大きくはみ出すものが●黒丸で示されているが、D:糖尿病, Nは慢性腎炎, Sはステロイド長期使用, Hは高齢者である。

さの推移をつけ加えた。

予後判定のパラメーターとして、菌陰性化までの期間、洞消失までの期間、目標到達までの期間（菌陰性であることを前提として、X線上充塞した空洞の縮小傾向がほぼ停止した時点、または空洞壁がほぼ紙様に菲薄化した時点までの月数、菲薄化後洞消失した症例では菲薄化まで）をとつた。

〔成績〕 228例の対象は、男169、女69で59歳以下が大部分。治療開始時空洞型はKa 100、Kb 32、Kc 38、Kd 48、Kx 7、Ky 2、Kz 1であつた。全体を通じて、対象が初回治療単個空洞例に限定されているためか、排菌陰性化の速度は早く6カ月までに全例陰性化し、各因子による菌陰性化までの期間の差を見つけることは困難であつた。また洞消失までの期間と、目標到達までの期間とでは、前者に誘導気管枝閉鎖という局所的条件が余計に加わるゆえか、バラツキが大きく、後者がよりよいパラメーターであつた。

目標到達までの期間は、空洞型にもつとも大きく左右され、KaとKbが早く、Kdがおそく、Kcはその中間を示し、洞内径と壁の厚さも、ある程度まで関与し、また胸膜癒着が洞半周にあるものがおそい傾向を示した。2カ月後のX線上の変化、ことに洞径の変化は、当然ながら目標到達までの期間に影響を与えていた。治療開始時排菌量については、塗抹培養とも陽性のものが、やや陰性化がおそいが大差はなく、洞消失、目標到達までの期間には影響がなかつた。合併症の存在は目

標点到達をかなり遅らせ、少数例ではあるが問題となる。その内訳として、コントロール不十分の糖尿病とともに、慢性腎炎がみられた。化療の強さとの関係では強力剤(SMd, KM 2 grd, INHd, RFPd)が1剤も入っていない群では目標到達までの期間が長く、3剤群(SMd, INH, RFPの併用例が大部分)が明らかに早かつた。それを反映してRFPあり群では、8割の例が目標到達に10カ月、全例では12カ月を要するが、なし群ではそれぞれ15.5カ月と20カ月を要し、RFP使用が空洞の形態からみた安定化にも大きく影響していることを示していた。それらの因子のどのような組合せがもつとも予後とよく関連するかの検討を行い、空洞型+洞内径+2カ月後の洞径の変化+強力剤数またはRFPの有無が目標到達までの期間ともつとも高い重相関係数を示したが、それでも0.465にしかならず今回とりあげた諸因子から、化療の効果を予測することは困難であり、今後その判定方法の改良とともに、個体の細胞性免疫のレベルを示す指標を組込む努力が必要と思われた。

終りに空洞内結核菌培養成績にご協力頂いた大阪府羽曳野病院亀田和彦博士、化療効果判定の研究に御尽力下さつた結核子防会結核研究所附属療養所佐藤瑞枝、木原和郎両博士および統計的処理にお力添頂いた国立公衆衛生院疫学部福富和雄博士に深く感謝します。

—追加発言—

Rifampicin (RFP) の結核菌に対する殺菌効果について

京都大学結核胸部疾患研究所 前川 暢 夫

RFP が登場する以前の成績では、1年以上排菌陰性を続けている空洞例からも病巣培養で20%以上に菌が培養されたのに対して、RFPを使用した最近の症例についてみると6カ月以上菌陰性を続けている14例全例が空洞が残存しているにもかかわらず病巣培養陰性であった点から、岩井博士は菌陰性空洞における従来の化学療法の効果の限界をRFPの参加によつてこえることの可能性を示唆されたと考えるが、私どもはRFPの結核菌に対する殺菌効果を試験管内実験で検討したのでその成績を追加したい。実験方法はSilicone-coated Slide

Culture 法で、培地は10%血清加Kirchner培地、被検菌株はH37Rv株である。この方法は簡単に培地置換培養を行えるところに特長があるので、INH、SMを対照薬剤としてRFPの殺菌力を検討した。その成績によるとRFPはINHやSMに比べてはるかに強い殺菌効果を示し、わずか1回1時間の接触でも相当な殺菌力を発揮することを認めている。これは他の抗結核剤にはみられない特性で、RFPの有用性の一端を示すものと考えている。

—特別発言—

有空洞例の治療目的達成に関する要因の重みづけの試み

名古屋市立大学第2内科 山本 正彦

初回・排菌・有空洞例553例について、2年後の治療目的達成(ⅡB以上)に関連する要因の重みづけを多要因分析モデルによつて算定した。結果は表1のごとく

で、空洞型(Kd, Kx, Ky, Kz)、年齢(40歳以上)、空洞内径の和(40mm以上)などが重要である。

表1 治療目的達成に関する要因の重みづけ

| Item | 偏相関係数 | 単相関係数 | Category score × 10 ⁸ | | | | | | |
|---------|-------|-------|----------------------------------|-------------------|-----------------|-------------------------|-------------|-------------|------------|
| 年齢 | 0.24 | 0.49 | ~19歳 0, | ~39歳 0.6, | ~59歳 -17.7, | 60歳~ -22.3 | | | |
| 合併症 | 0.09 | 0.23 | なし 0, | 肺 -6.7, | 全身 -4.8, | 糖尿病 じん肺 -11.3, -14.0 | | | |
| 空洞型 | 0.30 | 0.50 | a 0, | b 5.9, | c -15.1, | d -21.8, | x -23.8, | y -28.4, | z -24.5 |
| 肋膜病変 | 0.22 | 0.41 | なし 0, | あり -16.7 | | | | | |
| 空洞内径の和 | 0.21 | 0.54 | ~19mm 0, | ~39mm -4.4, | ~59mm -22.0, | 60mm~ -21.0 | | | |
| 主病巣の大きさ | 0.18 | 0.47 | ~39mm 0, | ~99mm -11.7, | 100mm~ -22.4 | | | | |
| 菌陰性の月 | 0.25 | 0.45 | ~2カ月 0, | 3, 4, 5カ月 -5.8 | 6カ月~ -25.9 | | | | |

3. 化学療法の場合と期間

大阪府立羽曳野病院 桜井 宏

化学療法の進歩により結核治療の場合と期間についての考え方は大きく変わりつつある。療養所療法は長年結核治療の主流であったが、入院と外来の治療効果を比較した多くの対照実験の成績は、「適正な化学療法が行われ

た場合は、入院治療と在宅治療の間にはその効果にほとんど差がみられない」ことを示し、最近欧米では外来治療が主体となり、入院期間は著しく短縮されている。

わが国の結核治療の場の現状を、48年度の全国登録肺

結核患者の受療状況よりみると、活動性肺結核全例では68.9%、感染性のものの43.5%、そのうちの広範空洞型では27.3%が在宅治療を受けており、外来治療にかなりの比重がかかっている。これらの比率は化学療法の進歩とは無関係に、この十数年間ほとんど不変である。入院治療については、今なお一般に療養所療法の考え方が残っており、入院は長期にわたる場合が少なくない。全国結核専門病院の平均在院日数は近年やや短縮の傾向がみられるが、48年度にはなお339日であり、このような長期間の入院が患者の社会復帰を困難にし、また入院阻害の要因の1つになっている。

羽曳野病院では、42年以来短期入院方式を実施しているが、菌陰性化して6カ月以内に退院した患者の遠隔成績を調査した結果、入院中の患者教育、退院後の主治医との連絡、定期的来院指導を徹底することにより、わが国の現状においても、この方式が初回治療、中等症までの患者に広く適用しうることを実証し、特に最近初期強化治療により菌陰性化のスピードが早まるにつれて、在院日数はさらに短縮され、48年度の全患者の平均在院日数は166日、初回治療例のみでは142日となっている。

一方、わが国の外来治療の現状は、不十分な菌検査、患者管理の不徹底、医師の服薬についての無関心、患者の非協力等による治療の不規則、中断等、化学療法が必ずしも適正に行われているとはいえず、治療失敗例が少なくないことはしばしば経験するところである。外来治療における菌検査の実態を知るため、大阪府公費負担による外来化学療法実施中の患者について、49年度の報酬レセプトより無作為抽出により結核菌検査の頻度を調査した結果は、結核専門病院の外来では60%、一般病院の外来では26%、診療所の外来では24%であり、化学療法の重要な指針である菌検査が、外来治療では極めて不十分である事実をうかがうことができる。また大阪府1保健所における45年度新登録肺結核患者のうちの有空洞初回治療例で、4年後の状態を確実に把握しえた症例について、初回治療の場とその後の経過との関係をみた成績では、4年後になお感染性と判定されたものを治療不成功例とみなすと、最初より外来治療を受けたもの88例では29.5%に不成功例がみられたが、初回治療を入院して受けた69例では、病巣の広いものが多かったにもかかわらず、不成功例は13.0%であった。これは入院群の方が初期治療がより確実に行われたためと考えられる。

在宅治療、入院期間の短縮は今や世界の趨勢である

が、外来治療になお多くの問題があるわが国の現状では、感染性の初回治療例はまず入院の上強力な化学療法を行い、菌陰性化後早期に外来治療へ移す短期入院方式がとられることが望ましい。

化学療法は初期の単独、短期間投与の時代を経て、併用療法が行われるとともに治療期間は長期化の傾向がみられた。元来、適正な治療期間とは、治療終了後の遠隔成績より悪化率を最低にとどめる必要かつ十分な期間であり、また治療期間をいかに延長しても悪化率を低下させるには限界があり、それ以上の継続は副作用の点からも問題である。このような考え方から、現在欧米における初回治療の適正期間は1年半から2年とされているが、わが国の治療期間は一般に極めて長く、しかも強力な処方が続けられる場合が少なくない。

大阪府1保健所管内で47年度の登録肺結核患者1,787例について治療期間を調査した成績では、その20%にあたる372例が4年間以上の治療を受けており、そのうちの半数が7年間以上、1/4は10年以上も治療が続けられていた。しかもこれらの長期治療例の60%は治療を中止してもよいと判定される症例であつた。先に羽曳野病院で、適正な化学療法の期間を明らかにするため、多数の症例について治療期間と治療終了後の5年累積悪化率を求めた結果では、無空洞例では、初回治療で約2年、再治療で約3年、有空洞例では、空洞閉鎖後、初回治療で1年～1年半、再治療で1年半～2年が適正な治療期間であるとの成績を得ている。ただしこれらの症例にはEB、RFPの使用例は含まれていない。

最近、治療の初期にRFPを加えた強力な処法を用いて、全体の治療期間を短縮しようとする研究が行われている。羽曳野病院では、有空洞、菌陽性の初回治療例に、SM・INH・RFP併用を6カ月、ひき続きINH・PAS併用6カ月の治療を行い、1年間で治療を終了する短期療法の研究を行っているが、現在治療終了後7～18カ月後の成績では菌再陽転例は全くみられていない。これらの短期治療の研究の評価は、さらに長期間にわたる遠隔成績の結果にまたねばならないが、これまでの成績は治療期間を大幅に短縮しうる可能性を示しており、今後の研究の成果が期待される。

化学療法の場合と期間は、確実な服薬と十分な菌検査に基づく適正な治療を前提とした外来治療、および治療期間の短縮の方向に進んでいるが、わが国においても、これらについての研究と、現状における問題点解決のための早急な対策が必要である。

—追加発言—

初期治療の強化による治療期間の短縮

結核予防会結研附属療養所 木野 智慧 光

結核予防会結研および英国の短期化療実験の中間成績を紹介し、INH・RFPにSMまたはEBを加えた処方を用いれば、高度進展でも初回例なら治療期間を1年程度に短縮しうる可能性を示唆した。予防会の実験は中・高度進展初回例に最初6カ月間INH・RFP・SM 毎日(SMは3カ月毎日→週2日)投与し、6カ月以内に空洞閉鎖すれば、以後はINH・PASまたはINH 単独6カ月、空洞残存すれば「INH・SM・PAS→INH・PASまたはINH 単独」1年を追加して、計1~1.5年で治療を終了する計

画であるが、対象50例のすべてが菌陰性化し、うち治療終了した14例はその後6カ月までの観察で再燃0であった。英国の実験(Brit. Thorac. and Tuberc. Assoc.: Lancet, Sat. 18, Jan., 1975)はINH・RFP 6~18カ月治療に初め8週間SMまたはEBを加える方式で、9カ月以上治療群においては全例菌陰性化し、治療終了後も最長9カ月までの観察で再排菌(培養2回以上陽性)は0であった。

4. 再発からみた化療術式の効果

名古屋市立大学第2内科 山本 正彦・佐々 洋

研究目的

肺結核症の治療目標は近接的には非菌陰性化、空洞の治療であり、遠隔的には再発の防止である。

近接的な治療効果が初期薬剤の強度に関連することは

表1 重症再治療例の菌陰性化に対する背景および処方の影響

| Item | 扁相関係数 | Category score ×10 ⁴ |
|--------|-------|--|
| 性 | 0.081 | 男 女 0, -5.6 |
| 年齢 | 0.021 | ~39 40~ 0, -1.3 |
| 既往治療期間 | 0.038 | ~3年 3年~ 0, -2.4 |
| 排菌量 | 0.267 | 少量 中間量 多量 0, -4.4, -20.0 |
| 空洞内径和 | 0.196 | ~39 mm ~79 mm 80 mm~ 0, -7.2, -18.2 |
| 空洞型 | 0.030 | Kz以外 Kz 0, -2.2 |
| 使用薬剤数 | 0.064 | 1剤 2剤 3剤 0, 4.3, 9.3 |
| RFP | 0.097 | なし あり 0, 24.4 |
| EB | 0.094 | なし あり 0, 21.7 |
| KM | 0.077 | なし あり 0, 11.0 |
| TH | 0.084 | なし あり 0, 15.3 |
| CS | 0.077 | なし あり 0, 11.1 |

すでによく知られたところであるが、初期強力治療を行った症例に再発が少ないかについては、必ずしも十分な成績が集積されているとはいえない。木野(結核, 49: 279, 1974)は軽症例において、INHを連日投与した群は間欠投与例に比して再発が少なく、菌陰性化空洞においても3剤使用群が2剤・1剤群に比して再発が少ないと報告しているが、重症・再治療例においてはまだ成績が得られていない。

本報告は重症・再治療においても菌陰性化の得られたときに使用された処方の強さがその後の再排菌にどのような影響があるかを分析するのを目的とした。

研究対象・研究方法

一次剤耐性・重症再治療例(全例有空洞)で二次剤のみで治療を行った540例について、背景および処方が菌陰性化に与える影響を多要因分析により数量化することを試みた。

上の例のうち二次剤により菌陰性化(3カ月以上連続)の得られた219例について、再排菌の実態を分析するとともに、先に数量化された菌陰性化にかかわる背景の重さおよび処方の強さが再排菌にどのような関係があるかを分析した。

研究結果

1) 重症再治療例の菌陰性化に対する背景因子および処方の重みづけは表1に示すごとくであり、排菌量多量、空洞内径の和が菌陰性化をさまたげる因子として重要であり、RFP, EBなどの使用が菌陰性化に働き、多剤併用も相乗的な効果を現した。

表2 背景別・処方別再排菌率

| | | | |
|--------|-----------------------|----------|--------------------|
| 性 | { 男 27/155 17% } ** | 菌陰性化開始時期 | { 1カ月後 6/54 11% } |
| | { 女 17/56 30% } | | { 2カ月後 20/75 27% } |
| 年齢 | { ~39歳 14/77 18% } | | { 3カ月後 10/35 29% } |
| | { 40歳~ 30/135 22% } | | { 4カ月後 5/24 21% } |
| 既往治療期間 | { ~3年 12/101 12% } | | { 5カ月後 1/13 8% } |
| | { 3年~ 32/110 29% } | | { 6カ月後 2/10 20% } |
| 排菌 | { 少量 13/59 22% } | 使用薬剤数 | { 1 剤 18/66 27% } |
| | { 中間量 24/106 23% } | | { 2 剤 17/87 20% } |
| | { 多量 7/46 15% } | | { 3 剤 9/58 16% } |
| 空洞径和 | { ~39mm 14/57 25% } | 薬剤別 | { RFP 8/55 15% } |
| | { 40~79mm 17/83 21% } | | { EB 22/90 24% } |
| | { 80mm~ 13/71 20% } | | { KM 14/42 24% } |
| 空洞型 | { Kz 以外 21% } | | { TH 4/22 18% } |
| | { Kz 21% } | | { CS 0/2 } |

表3 Sample score (表1の Category score の各症例ごとの和より算出) 別の菌陰性化率および菌陰性持続率

| Sample score | 菌陰性化率 | 菌陰性持続率 |
|--------------|-------------|------------|
| ~ 333 | 60/60 100% | 34/41 83% |
| 333 ~ 82 | 129/158 82% | 82/100 82% |
| 82 ~ -134 | 76/117 43% | |
| - 134 ~ | 28/145 19% | 52/70 74% |

- 2) 排菌陰性化後の再排菌は1年を過ぎると少なくとも15カ月後には極めてまれとなる。
- 3) 再排菌例のうち同一処方により再び排菌陰性となり15カ月以上陰性を保つ率は1カ月のみ陽性の例では7/22(32%)であつたが、2カ月連続陽性となれば1/28(4%)と極めて低率となつた。
- 4) 二次剤により菌陰性化となつた後の二次剤投与方法別の再排菌率は、二次剤継続群16/37(43%)、二次剤減弱群4/19(21%)、二次剤を9カ月以後中止した群3/14(21%)であつたのに対して9カ月未満に中止した群では6/8(75%)と高率であつた。
- 5) 二次剤により菌陰性化が得られた後9カ月以上二

次剤を使用した211例についての背景別、処方別の再排菌率は表2に示すごとくであり、男性に低く、既往治療期間が短い例に低く、RFP 使用例、多剤併用例に低い傾向がみられた他は、菌陰性化のときにみられたような背景および処方の強さとの深い相関はみられなかつた。

6) 表1に示された菌陰性化に関する各背景因子および処方についての Category score を合計して得られた Sample score 別の菌陰性化率および菌陰性持続率は表3に示すごとくで、Sample score の大きいほど(軽症例に強力な治療を行つたほど)菌陰性化率は高くなつているが、菌陰性持続率には大きな変化はみられなかつた。

考察および結論

重症再治療においても菌陰性化は症例の背景および処方の強さに深い関連性がみられることはすでに知られているが、再排菌の防止とはそれほどの関連性がみられなかつた。その理由づけは不明であるが、これらの重症例においては再排菌を十分防止するほど RFP などを含んだ処方もおおむね相対的に強力ではなかつたこと、重症例で弱い処方で菌陰性化した例には例えば生体の防御力など未知の要因が有利に働いた可能性などが考えられる。

— 追 加 発 言 —

国立公衆衛生院 川 村 達

演者が結核菌1,764菌株、非定型抗酸菌166菌株について、Microtiter 法により10剤各2濃度の検査を実施した成績から、現在、最も実用的で望ましいと考えている耐性基準は、表に示す通りである。

したがつて、いわゆる低耐性のほとんどがこの基準をこえることになるが、国療中野病院の馬場治賢博士が、永年にわたる斜面培地を用いての精細な臨床研究から提唱されている基準や、Canetti らの Proportion method

における基準と、すべての薬剤で実質的にはほぼ一致するものであり、単なる細菌学的基準には止まらぬものと考えられる。

ただし日常検査の精度に前述のごとき問題がある場合には、いかなる基準も適用し得るものではない。各関係者の努力によつて早急な解決をみることを、改めて強く要請したい。

表 正しい条件で実施された耐性検査の成績に適用すべき、実用的な望ましい耐性基準一覧

| 薬 剤 | 低 濃 度 | | 高 濃 度 | |
|-------|--------|-------|--------|------|
| | mcg/ml | 発 育* | mcg/ml | 発 育* |
| S M | 20 | 1%以上 | 200 | ** |
| P A S | 1 | " | 10 | ** |
| I N H | 0.1 | " | 5 | *** |
| K M | 25 | 50%以上 | 100 | 1%以上 |
| V M | 25 | " | 100 | " |
| C P M | 25 | " | 100 | " |
| R F P | 10 | " | 50 | " |
| E B | 2.5 | " | 5 | " |
| T H | 25 | " | 50 | " |
| C S | 20 | " | 40 | " |

* 対照培地の発育に対する%で示す。

** 實際上、感受性検査の立場からは、この濃度は不要である。

*** 感受性検査の立場よりも、菌株の毒力との関係において意義が認め得る。
50%以上の発育とは、実地上、いわゆる完全耐性に相当する。

5. 重症例の化療

京都大学結核胸部疾患研究所内科1 中 西 通 泰

通常の治療によって菌陰性化、空洞の消失、社会復帰などを目差した治療目的の達成されないものが難治結核であり、病巣の進展が著明で治療に困難が予想されるものが重症結核であるが、この両者は実際上はほとんどが重なり合っている。この難治結核、重症結核の治療でわが国では、国療化研、日結研、療研などのすぐれた研究方法と組織によつて、目ざましい成果をあげてきた。

種々の要因によつて成立する難治の肺結核を規定する最大のものは、化療の面では薬剤耐性であり、外科手術に対しては低肺機能であつた。しかし今も残存する難治肺結核症例のほとんどは過去の遺産であり、今後も次第に減少してゆくであろう。

重症結核も実態調査の成績からしても減少してきた。これは RFP の登場により重症結核に対しても、初回では100%菌陰性化というほぼ満足すべき強化化療を行えるようになったためであろう。重症例の化療を全うするため、また新たな難治の肺結核を作らないためには、INH, EB, RFP などを含む強化化療を適切に行うのが原則である。

48年の結核実態調査の成績から結核患者の動向をまとめてみると、要医療の肺結核患者は重症のものも含めて予想外の減少を示し、これが老人層に偏在してきた。そして近い将来、肺結核は全くの老人病となることも予想される。手術を要する症例はほとんどなくなつてしまつた。

化療の進歩により肺結核の子後が改善され、手術の適応症例が減少し、老人の肺結核患者が、しかも重症のものが増加する傾向が著明になつてきた現在、これからの結核を考えると、治療を困難にする最大のものは合併症であろう。

そこで合併症の主なものについて症例をあげ述べる。

老人結核にはとくに合併症が多く、しかもそれがしばしば生命の子後に強く関連する。最近経験した症例では、喀痰菌陽性、病型 B₃Kc の患者で、7カ月の入院期間中に Grawitz's Tumor で右腎剝、A-V malformation からのくも膜下出血のために開頭手術を行つている。化療は INH, EB, SM, RFP の併用で開始したが、EB は視野狭窄のため5カ月中止し、退院後は INH, RFP を続け経過は良好である。

入院患者に緊急の重篤な合併症が生じた場合、患者が排菌しておれば、その処置のための他科への転科はまず不可能である。したがつて、このような合併症に対する治療も併せて行えることが、これからは必須の条件となるであろう。

全国国立療養所における結核死亡調査によると、死亡時にみられる非結核性合併症の中では中枢神経系の血管損傷、心疾患、悪性腫瘍、糖尿病などが目立ち、いずれも前回の調査に比し増加している。これらの合併症はそのまま老人結核の合併症であるといえる。

次に糖尿病を合併する肺結核が次第に増加している。

国療中央共同研究班による調査では、41年7月から47年1月の間に、肺結核に糖尿病の合併する率は3.2%から7.4%（全年齢，男女平均）に増加している。私どもの胸部研でもこの傾向は明らかである。症例をみるとほとんどが50歳以上の男子で、入院時の結核の病型はB型が多く、そのほとんどが大空洞あるいは多房空洞を有し、病巣の広りも大きく、排菌している。またFBS、1日尿糖量からみると、糖尿病のほうも重症のものが多い。発病の時期的関係を見ると、アナムネーゼからみる限り糖尿病先行のほうが多くなる。

糖尿病の治療は食事療法とともに、重症度に応じてインシュリン、経口剤も加え1日尿糖量をほぼ10g前後に、また標準体重を保つことを目標にした。結核の治療は重症結核の治療に準じた化療である。その成績は糖尿病がよくコントロールされた症例では、糖尿病を合併しないものと同じとみてよい。

珪肺に合併した肺結核は、非合併のものに比して難治であり、予後悪く、珪肺は結核患者死亡時の合併症としても目立っている。珪肺結核の特徴は、空洞があつて排菌陽性のものが多く、化療に抵抗し、再発、悪化が多いということである。したがって治療の要点は結核の早期発見、強力な化療を行うということにつきます。

第Ⅲ群菌の *M. intracellulare* による非定型抗酸菌症

の発生要因に関して、宿主の全身的あるいは局所的な抵抗力の減弱を来すような種々の基礎疾患あるいは既往症があつて、これが発病の要因となりやすいことが指摘されている。

活動性の肺結核に直接合併するものとしては今のところ問題はないであろうが、重症結核の治療にあつては、化療後の経過のなかで、*M. intracellulare* 症が起こってくる可能性のあることを常に考えておかねばならない。

合併症の問題からはずれるが、乳児結核は家族内感染によることが多いので、これからの肺結核が排菌する老人結核が多くなることを考えると重大な問題となる。しかしもつと若い親が感染源となりうることも忘れてはならない。乳児結核の場合、発見のおくれは治療を極めて困難なものにする。最近の経験例では生後8カ月の乳児の結核で、感染源は30歳の父親であつた。父親の入院に続いてこの乳児はツ反陽転し、両肺に広範な陰影が出現した。治療は鼻腔チューブによる栄養とINH、RFPの注入、SMの注射で良好な経過をとり、薬剤の副作用もとくになく6カ月で退院した。

以上、今後の肺結核の治療で最も問題となるであろう合併症を中心に症例をあげ述べた。

6. 抗結核剤の副作用と対策

東北大学抗酸菌病研究所内科 萱 場 圭 一

現在使用されている抗結核剤の副作用について、昭和47年6月と49年6月の2回にわたりその当時の加療中の患者計371名について病歴と面接によつて既使用の各薬剤の副作用の有無、副作用の症状およびその発現の時期等について調査を行つた。更に関連病院へのアンケート調査や、最近15年間の文献による調査も併せて行つた。

1) SM: 2回の調査を含めて副作用のため投薬を中止した症例の割合は17.2% (47/273)であつた。50歳以上の比率が高かつたがこれは主な副作用である第8脳神経障害が高齢者に多いためである。耳なり(中止率10.6%)、聴力障害(複合SM6.3%、硫酸SM3.6%)が主で、めまいもわずかみられた。一般に使用量の多いほど多く大体使用6カ月以降に発生することが多い。しかし個人差があり使用量とは必ずしも一致せず若年者にも、50g以下の少量でも中等度まで低下することがある。対策としてビタミン剤等が用いられているが確実に有効なものではなく、オージオメーターによる定期的な検査が必要である。また一過性のしびれ感、こわばり、歯不快感、頭痛などもみられ、発熱、発疹、かゆみ等の過敏症

を示すこともあるがそれぞれ全体の1%程度である。このほか、悪心、嘔吐、食欲不振、耳閉感、脱毛がみられ、皮膚粘膜反応、血液反応、腎毒性、神経炎、胎児の聴神経に影響ありとの報告もある。

2) PAS: 投薬中止例は22.7% (34/150)でその大部分は胃腸障害である。この他発熱、発疹などのアレルギーが約3%、肝障害が1%程度みられた。いずれも1カ月以内に発生した。

文献には、アレルギー性血管炎、心嚢炎、口腔菌齦炎、紫斑、出血、レフラー症候群、皮膚粘膜反応、顆粒球減少症、甲状腺腫、糖尿、尿結石、腎機能障害、メトヘモグロビン血症、肝斑がみられる。

3) INH: 投与中止の割合は全薬剤中最も少なく咯血、血痰、知覚異常、しびれなど1.7% (6/344)であつた。しかし文献には末梢神経炎1.0~2.0%、リウマチ様関節炎、精神症状(錯乱、幻覚、記憶減退、うつ症、てんかん)、脳症状(頭痛、嘔吐、けいれん、嗜眠)、トランスアミラーゼ上昇、アレルギー0.4~1.0%、好中球、粒球、顆粒球減少症、狼瘡、ペラグラ、口腔菌齦炎が報告されている。特にINHを10mg/kg以上大量投与した場合

や、TH と併用した場合、高齢者、低栄養、重症者に多発している。対策にはピリドキシンがよく用いられている。

4) KM: 中止率は26.7% (32/120) であつた。副作用はほとんど SM と同様である。この内聴力障害による中止は16.6%で SM, DHSM より多い。しかし前庭機能障害は少ない。

5) TH: 副作用中止の割合は調査した薬剤の中で最も高い。45.7% (21/46) でこの大部分は胃腸障害である。次いで精神神経症状が約6%、肝障害約5%である。かゆみ等のアレルギーもわずかみられた。いずれも使用1~2カ月の早い時期に発生している。この他ペラグラ、ビタミン欠乏症、皮膚粘膜症状、低血糖、甲状腺機能低下症、甲状腺腫大、好中球減少症、月経異常、女性化乳房、にきび、脱毛、口渇、浮腫、着色、多汗、流涎、更に催奇形ありとの報告もある。一般に55歳以上の高齢者、重症者に発現が多い。21 TH は14 TH より明らかに胃腸障害は少ないが肝障害は同等かむしろやや多い。

6) CS: 副作用は TH に次いで多く35.7% (15/42) である。これは精神神経症状(頭痛、めまい、知覚異常、不眠、不安、言語障害、てんかんなど)が大部分である。この他嘔気、肝、腎障害もみられた。発生月数としては6カ月以内が多い。またアレルギー(1.6~2.4%)、胃腸障害、口腔歯齦炎、血痰、喀血、顆粒球減少症も報告されている。

7) VM: 毒性は比較的強く31.2% (10/32) が中止せざるを得なかつたが、このうちショック4例、発疹3例を経験した。いずれも3カ月以内に発生した。この割合は一般にいわれるより大変多い。

8) CPM: 毒性は SM に似ているが比較的弱い。12.5

% (2/16) が聴力障害、耳なりで中止したにすぎない。VM, CPM とも SM, KM 同様の注意が必要である。

9) PZA: 抗菌力が弱いわりに副作用が強いので9例に使用したにすぎないが3例(33.3%)に喀血、血痰、関節痛、知覚異常、しびれをみた。いずれも3カ月以内に発生した。この他肝障害が多く報告され、胃腸障害、発疹、痛風などもみられる。

10) EB: 大部分の症例に EB を使用したが中止率は6.3% (22/350) と少ない。視力障害は3.1%でこれは使用3~6カ月以降に多い。投与量の多いほど(15 mg/kg が適当)、3分服した場合、高齢者、低栄養、腎障害者に起こりやすい。早期にみられるものにはかゆみ、発疹、胃腸障害、肝障害があり、この他発熱、めまい、しびれ、不眠、脱毛、いぼ、流涙、閃光を訴えた者もある。文献には末梢神経障害1.4~3.8%で特に SMON に似た症状を示すことがあり、また精神障害、血痰、生理異常、尿酸過多症などがみられる。

11) RFP: この中止率は2.5% (6/242) で INH に次いで少ない。胃腸障害1.7%、肝障害0.4%である。この他発熱、発疹、かゆみ、まれにショックなどのアレルギー症状、しびれ、頭痛等の神経症状もみられたが、いずれも使用1~2カ月の早い時期に起こっている。肝障害が多く報告されているが一過性の GOT, GPT の上昇も多い。はじめから肝機能の低下している者、大量投与、INH との相乗作用(INH を5 mg/kg 以下併用のこと)は注意を要する。この他腎障害、血小板、白血球減少症、免疫抑制作用がある。

12) SF: 6.5% (2/31) に胃腸障害をみた。このほか血液障害、アレルギー、皮膚粘膜症状、肝障害、腎障害、尿路結石などが知られている。