

原 著

BCG 生菌の免疫強化作用の作用様式についての基礎的研究 (その1)

原 田 泰 子

九州大学医学部付属胸部疾患研究施設

受付 昭和 52 年 3 月 28 日

STUDIES ON THE MODE OF THE IMMUNOPOTENTIATING ACTION
OF BCG (PART 1)

Yasuko HARADA*

(Received for publication March 28, 1977)

The mice (CF1) were used for the experiment. The immunopotentiating action of BCG was estimated by the immunologic response to the sheep red blood cells. The delayed hypersensitivity was evaluated by the foot pad reaction and a hemagglutination test and a hemolytic plaque test were used to assay the humoral immune response.

Results obtained were as follows.

1) BCG exerted its potentiating effect upon the immune response to SRBC only if BCG and SRBC were introduced into the same areas that drain to a common lymph node. The optimal interval between BCG priming and the subsequent SRBC injection to produce the highest level of the delayed hypersensitivity was about 5 to 7 weeks. The antibody formation reached its maximum about 9 to 11 weeks when the delayed hypersensitivity was decreasing. It could reasonably be concluded that the immunopotentiating action of BCG was biphasic following BCG injection.

2) The plaque forming cells of the draining lymph node of BCG site developed in parallel with the resulting level of the delayed hypersensitivity. The plaque forming cells of the spleen reflected the antibody titer.

緒 言

結核感染に対する予防として用いられた BCG を、腫瘍の予防や治療に役立てようとする試みは、すでに1950年代に始まっている。当時 Old¹⁾ や Halpern²⁾ らは、BCG がある条件下で動物の腫瘍に抑制効果を示すことを報告している。BCG 接種により、生体の網内系の機能が亢進し、非特異的に微生物の感染に対して抵抗性が高まる事実がみられる¹⁾³⁾⁻⁵⁾ことが、腫瘍に BCG を用いるきつかけとなつたものと思われる。最近、Mathé⁶⁾ や Morton⁷⁾による急性白血病や、メラノーマ患者に対す

る治療成績等により、再び急速に BCG による癌免疫療法が注目されるようになってきた。

一般に、腫瘍の免疫療法には二つの方向があり、一つは腫瘍特異抗原に対して免疫反応を増強させる方向、例えば腫瘍細胞を完全フロイドアジュバントに混ぜて active immunization するような方向、他の一つは担癌個体の免疫能低下の防止、および免疫能特に細胞性免疫を非特異的に増強させ、その結果として腫瘍特異抗原に対する免疫反応を増強させる方向であると思われる。BCG は、BCG そのものが腫瘍細胞に対して、増殖阻止的、あるいは細胞破壊的に働くわけではないので、生体

* From the Research Institute for the Diseases of the Chest, Faculty of Medicine, Kyushu University, Maidashi 812 Japan.

に対するその免疫強化能を介しての抗腫瘍効果を期待するわけであり、上記二つの方向の主に後者の形で試みられている。

一口に、BCG の免疫強化作用といつてもその詳細は未だ明らかではなく、腫瘍に対する臨床応用の以前に、BCG が生体内で発揮する免疫強化作用の作用様式を明らかにすることは必要だと思われる。すでに Miller, Mackaness ら⁹⁾ はマウスにおいて、羊赤血球を抗原として用い、BCG 生菌が遅延型反応も抗体産生もともに増強することを観察している。しかし抗酸菌属の BCG は、生体内で極めて長く生存するものであるが、従来の報告は短期間の観察が多く、time dependent な変化の追究が不充分であるように思われる。われわれはマウスにおける日本株 BCG 生菌の免疫強化作用の作用様式の長期間の検討を本実験の目的とし、特に細胞性免疫の面を中心に time dependent な反応の変化を観察した。

材料と方法

動物：九大純系動物飼育施設より供給された生後 8～12週齢の CF₁ 雌マウスを使用した。

BCG：日本ビーシー製造株式会社の凍結乾燥標本を生理食塩水に懸濁して使用した。

抗原

羊赤血球 (SRBC)：Asever 液に浮遊したものを、生理食塩水で 3 回洗浄後、使用する量を生理食塩水に再浮遊させて使用した。

免疫方法：BCG 接種、羊赤血球の感作の際の感作経路はすべて、右足蹠の皮内注射か、尾静脈への静注で行なった。

免疫反応の測定

血清抗体価：心穿刺により採血し、5 匹ごとに同量ずつプールした血清について、凝集抗体価をマイクロプレ

ートを用いて測定した。

足蹠反応：足蹠反応の 24 時間値が遅延型反応を表現することは、Gray¹⁰⁾, Miller⁹⁾ らによつて確定されているのでこれを用いた。感作 4 日後に、感作と反対側の左後足蹠に 0.05 ml の抗原液 (1×10⁸/0.05 ml の SRBC, 2 μg/0.05 ml の PPD) を皮内注射し、24 時間後、足蹠の腫脹を、ダイヤルゲージ・キャリパー (Schnelltaster, Kröplin) で測定し、注射前の値との差で表現した。足蹠反応値 1 単位は 0.1 mm の腫脹を示す。

右膝窩リンパ節の細胞数の測定：マウスの抗原感作側右膝窩リンパ節を剝離摘出し、破砕後、メッシュを通して単一細胞浮遊液を作り、血球計算盤で数えた。

溶血プラーク数の算定：Jerne 法¹¹⁾¹²⁾ に多少の修飾を加えて算定した。SRBC で感作したマウスを 4 日後に屠殺し瀉血した後、摘出した脾臓と右膝窩リンパ節 (実験によつては、鼠径リンパ節、腋窩リンパ節も行なつた。) をメッシュを通し、脾臓の場合は 5 ml、右膝窩リンパ節の場合は 2 ml の Hanks 液を用いて細胞浮遊液を作り、脾臓は駒込ビペットでよく攪拌後 10 分間静置して沈渣をさけ、上清部分を用いた。有核細胞数の生死の算定には、トリパンブルーを使用した。

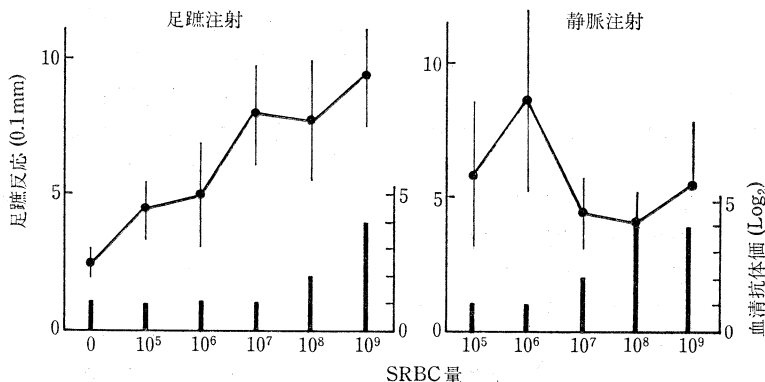
有意差の検定：足蹠反応について、実験群と対照群の差の検定を student の t 検定によつて行なつた。

結 果

I. 羊赤血球に対する免疫反応

1) 抗原の感作量、感作経路の遅延型反応に及ぼす効果 SRBC の量を 10⁵～10⁹ まで変化させ、感作経路を右足蹠群と静注群に分けて、感作 4 日後に遅延型反応 (以下、DTH と略) と抗体価を観察した (図 1)。マウスは 1 群を 10 匹とし 5 匹を足蹠反応、他の 5 匹を採血し血清抗体価を測定した。右足蹠感作群では、抗原量の増

図 1 SRBC 感作経路および感作量の足蹠反応と血清抗体価に及ぼす効果



足蹠反応および血清抗体価は、SRBC 感作 4 日後に測定した。実験群は 1 群マウス 10 匹とし 5 匹で足蹠反応、5 匹で血清抗体価を測定した。以後実験はすべてこのように行なつた。

●—●：足蹠反応 (縦棒は標準偏差を示す) 棒グラフ：血清抗体価

図 2a SRBC 10⁶, 10⁸ 右足趾感作後の足趾反応と血清抗体価の経時的变化

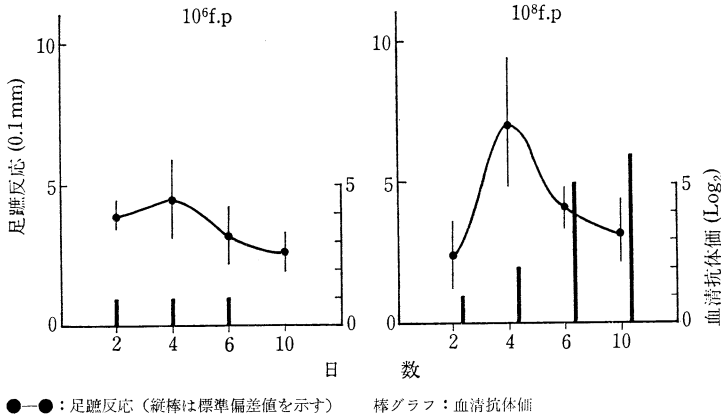


図 2b SRBC 10⁶, 10⁸ 静注感作後の足趾反応と血清抗体価の経時的变化

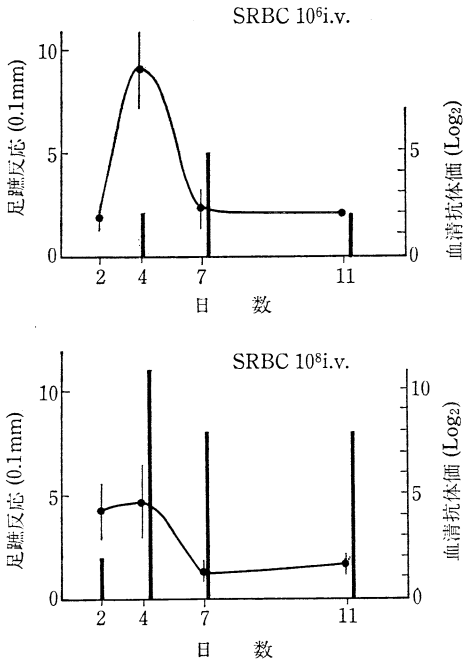


表 1 前処置に用いる BCG 足趾皮内接種量の SRBC に対する足趾反応と血清抗体価に及ぼす効果

BCG接種量(mg)	足趾反応(0.1mm)	血清抗体価(log ₂)
0	2.4±0.5	1
0.01	3.0±2.1	1
0.1	3.6±1.9	1
1.0	6.0±3.4	1

BCG は SRBC 2×10⁸ 右足趾感作の10日前に右足趾に接種した。

ない、同時に残りの5匹で血清を採取し、抗体価を測定した。

II. 免疫反応に及ぼす BCG の影響

1) BCG 接種量の遅延型反応に及ぼす効果

Miller ら⁸⁾によれば、BCG の免疫強化作用は、抗原と同時に接種するよりも、BCG を接種した同一局所に、ある間隔をもつて抗原を感作したときに強く現れると報告している。したがって BCG の種々の量を、抗原感作前に接種して DTH を観察し、dose response が認められるかどうかを検討した。

BCG を 0.01~1 mg 右足趾に接種し、SRBC の量は、SRBC 単独の右足趾感作では、抗体も DTH もあまり誘起しない低抗原量 2×10⁵ を使用して DTH を観察した。BCG は抗原感作の10日前に接種した(表1)。その結果、BCG の量の増加に伴って DTH が上昇するのがみられた。一方 BCG による抗体価の上昇はほとんどみられなかつた。

2) BCG と抗原感作との間隔

BCG の dose response を観察した上記実験では、BCG を抗原感作の10日前に接種したがこの実験においては、BCG 右足趾接種から抗原感作までの間隔を同時投与も含めて、0~28日の各時期にとり、DTH と抗体価を観察した。SRBC は10⁶を右足趾感作した(表2a)。その結果、BCG と抗原を同時に投与するよりも、BCG

●—●：足趾反応(縦棒は標準偏差値を示す) 棒グラフ：血清抗体価
 加に比例して DTH も抗体価も上昇がみられたが、静注感作群では、抗体価の低い低抗原量で DTH の上昇がみられ、抗原量が増加するとともに抗体価は上昇するが、DTH は減弱する傾向がみられた。

2) SRBC 感作後の遅延型反応の経時的变化

上記の結果を基にして、静注群と右足趾感作群において、おのおの10⁶の低抗原量と10⁸の高抗原量で感作した場合の感作2~11日後の DTH を観察した。いずれの場合も DTH は4日後に最も強く出現した(図2a, 2b)。したがって、以後反応測定時1群は常に10匹とし、5匹で足趾反応を DTH が最も強く出現する感作4日後に行

表 2a BCG足趾皮内接種と抗原(SRBC)感作との時間間隔が足趾反応および血清抗体価に及ぼす影響

BCG 接種と抗原感作との間隔 (日)	足趾反応 (0.1mm)	t 検定	血清抗体価 (log ₂)
0	1.4±1.0	N. S.	1
3	4.2±1.2	p<0.01	2
7	5.0±1.1	p<0.01	1
14	6.0±1.9	p<0.01	1
21	8.6±0.5	p<0.001	1
28	6.8±2.7	p<0.01	1
対照群*	2.0±1.3		1

* 対照群は SRBC 10⁶ の右足趾感作のみ行なつた。
 SRBC は BCG 1mg 接種後上記間隔を置いて右足趾に感作した。
 t 検定は対照群に対して行なつた。

表 2b BCG足趾皮内接種と抗原(SRBC)感作との時間間隔が足趾反応および血清抗体価に及ぼす影響

BCG 接種と抗原感作との間隔 (週)	足趾反応 (0.1 mm)	t 検定	血清抗体価 (log ₂)
1	2.2±0.7	N. S.	1
3	4.8±0.8	p<0.01	2
5	5.5±0.5	p<0.01	3
7	6.3±0.5	p<0.01	4
9	6.5±1.5	p<0.01	3
11	4.8±1.5	p<0.05	1
対照群*	1.6±1.4		3

* 対照群は SRBC 10⁶ の右足趾感作のみ行なつた。
 SRBC は BCG 1mg 接種後上記間隔を置いて右足趾に感作した。
 t 検定は対照群に対して行なつた。

1 mg を接種後、一定の期間を置いて同一局所に抗原を感作する方が DTH を強く誘起することがわかつた。この実験では 3 週以上の間隔において DTH が強く誘起されたので、更に BCG 接種後 1~11 週の長期にわたつて、その各時期に SRBC 10⁶ で感作し、DTH と抗体価を観察した (表 2b)。その結果、DTH は BCG 接種後 3 週間より増強し始め、7~9 週頃にピークに達することが

表 2c BCG 足趾皮内接種後の時間経過による PPD 反応値と接種局所リンパ節 (右膝窩リンパ節) の細胞数の変動

BCG 接種後の時間 (週)	足趾反応 (PPD)	t 検定	右膝窩リンパ節細胞数 (log ₁₀)	t 検定
1	1.4±1.0	N. S.	5.5±0.3	N. S.
3	3.0±1.4	p<0.05	7.4±0.2	p<0.05
5	8.0±1.0	p<0.001	7.6±0.03	p<0.01
7	7.0±1.7	p<0.001	7.5±0.3	p<0.05
9	6.3±1.3	p<0.001	7.9±0.1	p<0.01
11	5.3±1.1	p<0.001	8.0±0.1	p<0.01
対照群*	1.0±0		6.2±0.7	

* 対照群は正常無処置マウスであり、PPD (2 μg) によるテストのみ行なつた。
 足趾反応は BCG 1mg 接種後上記間隔を置いて PPD (2 μg) でテストされた。
 t 検定は対照群に対して行なつた。

わかつた。

3) BCG 接種後の PPD に対する遅延型反応、および接種側灌注リンパ節の細胞数の経時的変化

BCG 右足趾接種後の 1~11 週の各時期に PPD 2 μg に対するツベルクリン反応、および BCG 接種側である右膝窩リンパ節の細胞数の変化を検討した (表 2c)。その結果、PPD に対する DTH は、SRBC に対する DTH の推移に一致し、3 週間より上昇し始め、5~7 週がピークとなつた。右膝窩リンパ節の細胞数も DTH に平行して、3 週間より増加しはじめるが、細胞数は DTH が減弱しても長く増加の傾向をとどめていた。

4) BCG 2 mg, 4 mg 接種後の遅延型反応の経時的変化
 以前の実験より、BCG の接種量は 1 mg までは、その免疫強化作用が dose response を示すことがわかつたが、至適量のあることが考えられるので、2 mg, 4 mg を使用して、右足趾接種後 1~7 週の各時期にマウスを 2 群に分け、1 群ではツベルクリン反応を行ない、他の 1 群には SRBC 10⁶ を右足趾感作して SRBC に対する DTH

表 3 BCG (2 mg, 4 mg) 前処置(足趾皮内接種)による SRBC に対する免疫強化作用およびツベルクリン反応に及ぼす経時的変化

BCG 接種後抗原感作またはツ反応までの時間(週)	SRBC に対する反応					ツベルクリン反応		
	足趾反応 (0.1 mm), t 検定				血清抗体価 (log ₂)			
	2 mg		4 mg		2 mg	4 mg	2 mg	4 mg
1	12.8±0.8	p<0.001	12.0±3.7	p<0.05	2	1	0.4±0.5	0
3	12.2±1.5	p<0.001	13.8±2.1	p<0.001	2	2	1.0±1.1	1.4±0.5
5	16.2±2.1	p<0.001	12.3±1.3	p<0.001	3	2	3.0±2.0	3.8±1.2
7	14.7±2.1	p<0.001	12.2±1.9	p<0.001	4	3	7.5±3.4	4.3±1.3
対 照 群*	5.3±0.4				3		0	

* 対照群は SRBC 10⁶ の右足趾感作のみ、あるいは PPD 2 μg によるテストのみ行なつた。
 BCG 2 mg, 4 mg はマウス 1 匹当りの量である。
 t 検定は対照群に対して行なつた。

表4 BCG 足趾皮内接種後の各時期における SRBC に対する足趾反応と脾臓および右膝窩リンパ節（灌注リンパ節）の PFC の経時的変化

BCG 接種と抗原感作との間隔 (週)	右膝窩リンパ節		脾臓		足趾反応 (0.1 mm)	血清抗体価 (log ₂)
	全細胞数 (×10 ⁷)	プラーク数	全細胞数 (×10 ⁷)	プラーク数		
3	2.6±1.4	3,813	5.2±0.8	2,340	10.8±2.2	5
5	2.0±1.8	15,200	6.1±1.1	11,283	13.9±0.7	6
7	3.1±1.2	16,600	4.6±0.6	10,625	13.7±1.4	6
11	3.4±2.1	6,420	3.6±0.6	9,400	12.0±1.6	7
対 照 群*	0.5±0.2	2,460	3.5±1.1	200	5.8±1.5	3

* 対照群は SRBC 10⁷ 右足趾感作のみ行なつた。

PFC および足趾反応は BCG 前処置し、抗原感作4日後に測定した。マウスは1群10匹とし、5匹で PFC および血清抗体価を、他の5匹で足趾反応を測定した。

表5 BCG 足趾皮内接種後5週と10週の SRBC に対する足趾反応と右膝窩リンパ節、脾臓、腋窩リンパ節の PFC の経時的変化

BCG 接種と抗原感作との間隔 (週)	右膝窩リンパ節		脾臓		腋窩リンパ節		足趾反応 (0.1 mm)	血清抗体価 (log ₂)
	全細胞数 (×10 ⁶)	プラーク数	全細胞数 (×10 ⁷)	プラーク数	全細胞数 (×10 ⁶)	プラーク数		
5	10.4±4.5	7,690	3.2±1.1	54,000	4.1±2.3	44	7.4±2.1	8
10	17.2±8.4	3,030	2.1±4.9	43,970	4.8±2.2	108	7.0±2.2	9
対照群*	6.8±1.6	17,772	2.0±1.2	1,460	2.3±1.4	10	5.4±1.0	4

* 対照群は SRBC 10⁸ 右足趾感作のみ行なつた。

PFC および足趾反応は BCG 前処置し、抗原感作4日後に測定した。

を観察した(表3)。まず、ツベルクリン反応においては、2mg 接種群では7週まで経時的に DTH の上昇がみられるが、4mg 接種群では5週頃より DTH の上昇が急にゆるやかとなつた。SRBC に対する DTH はツベルクリン反応の場合とほぼ同様の結果を示し、2mg では5週がピーク、4mg では3週がピークと早くなるが、5週頃より減弱し始め、総じて4mg の場合は、1mg、2mg 接種の場合より免疫強化作用の発現が著明でなかつた。したがつてマウス1匹当り4mg は過量であること、BCG の接種量にも至適量があり、CF₁ マウスでは1~2mg が適当であることがわかつた。

5) BCG 接種後の各時期における SRBC に対する遅延型反応と PFC の経時的変化

BCG 右足趾接種後の3~11週の各時期における、脾臓および右膝窩リンパ節の SRBC に対する PFC と DTH および抗体価を観察した。SRBC は10⁷を右足趾感作し、感作4日後に PFC を測定した(表4)。DTH の発現は SRBC 10⁶ 感作の場合と同じ傾向を示した。右膝窩リンパ節の PFC は、BCG 接種後3週頃より増加し始め、7週でピークに達し、DTH の推移とよく似た経過をたどつた。それに対し、脾臓の PFC の増加は5週でピークに達して以後、11週まで一定の高い値が維持された。これは血清抗体価がその傾向をよく反映した。

以上の結果から、BCG の SRBC に対する免疫強化作用は、細胞性免疫の面では、接種後3週頃より増強し始

め、5~7週で最大に達し、以後漸時減弱の方向に動いていくこと、それに対し液性免疫の面では、細胞性免疫に比しやや遅れ、その最大の時期が細胞性免疫の後退し始める後半の時期にあり、BCG の免疫強化作用は時間的に二相性の変化を示すことがわかつた。

次に BCG 接種後5週と10週の2時期における右膝窩リンパ節、脾臓、腋窩リンパ節の各 PFC の増加を検討した(表5)。5週と10週における DTH と抗体価は、今までと同様の結果を得た。SRBC は10⁸を右足趾に感作した。まず右膝窩リンパ節では、BCG 接種をせず抗原感作のみの対照群が最も高く、BCG 接種群では5週から10週へと減少していた。脾臓では対照群の PFC の産生はほとんどみられず、BCG 接種群は5週、10週ともに高い値を示した。この結果は、BCG 接種後の各時期における PFC を観察した表4の経過とほぼ一致していた。次に腋窩リンパ節では、対照群の PFC の産生はほとんどみられず、BCG 接種群では10週が増加を示した。この結果、灌注リンパ節である右膝窩リンパ節の PFC は DTH と平行した動きを示し、脾臓や腋窩リンパ節のような遠隔のリンパ組織の PFC は血中抗体の動きと平行していることがわかつた。

6) BCG 静注後の SRBC に対する免疫強化作用の経時的変化 (SRBC の低抗原量 2×10⁵、高抗原量10⁸ の静注感作の場合)

以上までの実験は、BCG も SRBC も全て右足趾に感

表6 BCG 静注後 SRBC 静注感作における足臑反応と血清抗体価に及ぼす経時的変化

BCG 静注と 抗原感作との 間隔 (週)	静 注 感 作					
	SRBC 2×10^5			SRBC 10^8		
	足臑反応 (0.1 mm)	t 検 定	血清抗体価 (log ₂)	足臑反応 (0.1 mm)	t 検 定	血清抗体価 (log ₂)
3	3.3±1.6	N. S.	3	9.2±1.1	$p < 0.01$	7
7	7.6±2.4	$p < 0.01$	2	6.7±1.0	$p < 0.01$	7
11	2.3±0.9	N. S.	1	4.9±1.5	N. S.	6
対 照 群*	2.6±0.5		3	4.1±0.8		6

* 対照群は SRBC 2×10^5 あるいは 10^8 の静注感作のみ行なつた。t 検定は対照群に対して行なつた。

作してきたが、以下の実験は、BCG, SRBC ともに静注投与し、上記の実験と同様に BCG の免疫強化作用を観察した。

BCG 静注後 3~11 週までの各時期に上記のごとく抗原量を変え、抗原静注後の DTH, 血清抗体価を観察した(表6)。SRBC 2×10^5 感作では DTH は 7 週がピークとなり、抗体産生は全体に著明でなかつた。SRBC 10^8 感作では DTH は 3 週がピークとなり、BCG, SRBC ともに右足臑感作時に比べかなり早い時期にピークが移つているのが観察された。抗体は対照群に比べあまり変化がなかつた。すなわち BCG による DTH 増強の発現時期は抗原量により変わり、抗原量が多いと早期にピークがくると思われた。

考 察

遅延型反応は、感染の過程においては、しばしば自然にみられるが¹³⁾、実験的には、結核菌体のような強力なアジュバント¹⁴⁾や生菌の使用なしにはほとんど誘起できない。一般に、遅延型反応を誘起しにくいといわれているマウス¹⁵⁾において、SRBC はアジュバントの存在なしに遅延型反応を誘起できる特異な抗原である。足臑反応が遅延型反応を観察していることは、Gray¹⁰⁾、Miller⁸⁾らにより、1) 反応の時間的経過、2) 細胞移入実験の成立、3) 反応部位の組織像の 3 点から証明されている。われわれも時間的経過(データは示していない)、local passive transfer¹⁶⁾ の 2 点を確認した。

Salvin¹⁷⁾、Uhr¹⁸⁾¹⁹⁾らは抗原の感作量、感作経路が遅延型反応に著しい影響を及ぼすことを述べている。われわれも図 1 より SRBC の右足臑感作では、抗原量の増加とともに遅延型反応、抗体価がともに上昇するのに対し、静注感作では抗原量が増加し、抗体価が上昇するにつれて、遅延型反応が減弱するのを観察した。この SRBC 静注感作における抗体と遅延型反応の関係について、Lagrange, Mackaness²⁰⁾²¹⁾らは SRBC 静注感作マウスの血清を注入すると、recipient マウスの遅延型反応が抑制されること、および摘脾マウスでは静注感作でも高抗原量で遅延型反応の減弱を来さないことを報告し、抗

体または抗原抗体複合物による遅延型反応の抑制、すなわち negative feed back の存在を示唆している。一方、近年遅延型反応を抑制する suppressor T cell の存在を認める報告²²⁾もなされている。当教室においても、 C_3H/He マウスにおいて、SRBC 高抗原量静注により過剰免疫した場合、遅延型反応を抑制する suppressor T cell が出現することを認めており(未発表データ)、suppressor T cell が関与する機序も想定される。このような感作経路による免疫反応の相違には感作された抗原が、まず捕捉される場所に大きな関係があるように思われる。すなわち足臑感作の場合は、抗原は感作局所の灌注リンパ節に、また静注感作の場合は前述したごとく、遅延型反応に抑制的に働く抗体の主要な産生臓器と考えられる脾臓に捕捉され、免疫反応が主に演じられる臓器の相違によることが考えられる。

ところで Dienes と Schoenheit²³⁾は 1930 年に結核病巣に注入された抗原が、遅延型反応も抗体産生も同時に強く誘起することを観察した。更に Miller⁸⁾は、BCG 接種後、同一局所に SRBC を感作することにより、SRBC に対する遅延型反応も抗体産生も高められること、またそれは BCG 接種によつて引き起こされた所属リンパ節の T 細胞活性化の増強によるものであろうと報告している。確かにわれわれの実験においても、BCG, 抗原ともに右足臑感作を行なつた場合、あるいは BCG, 抗原ともに静注感作を行なつた場合のような、同一局所、あるいは同一経路による感作が強い免疫反応を惹起した。本稿では示していないが、BCG を右足臑に接種した後に、抗原を静注感作しても、BCG の免疫強化作用は弱かつた。BCG の右足臑接種と抗原感作は、同時投与よりも両者の間に一定の期間を置くことが必要であることは、すでに Miller, Mackaness⁸⁾らが述べており、われわれも表 2 a, 2 b において確認した。この BCG 接種と抗原感作の期間は BCG そのものに対する遅延型反応(ツベルクリン反応)の成立を PPD でみていつた場合、その遅延型反応の成立してくる時期に相当した。更に BCG を右足臑に接種後 11 週までの長期にわたり、その SRBC に対する遅延型反応および抗体産生に及ぼす

経時的变化を観察すると、遅延型反応のピークはツベルクリン反応のピークと一致して5~7週にみられ、血清抗体価は遅延型反応の減弱してくる時期にピークに達してきた。このように長期間 BCG の免疫強化作用を調べると、BCG の影響は長く続くものであり、その接種後早期は遅延型反応の増強を、後期には抗体産生の増強という二相性の作用を示すことは注目値する。また BCG 生菌は株により、その毒力と免疫原性が異なるといわれている²⁴⁾²⁵⁾。BCG 日本株を使用したわれわれの結果は、他のコペンハーゲン株を使用した Miller ら⁸⁾の成績に比較して、遅延型反応の増強時期がやや遅く、BCG の株により、その免疫強化作用の発現時期が異なることがわかった。

BCG による遅延型反応の増強と抗体産生は、BCG, SRBC の両者とも静注投与した場合にもみられる。表6に示したように、BCG を静注前処置後、SRBC を静注した場合、高抗原量においても遅延型反応は強く誘起されており、BCG により活性化された T 細胞は、前述したような抑制因子 (blocking factors) の影響をあまり受けないと思われる。このような現象に対して、それは BCG により賦活化された細網内皮系により、抑制因子がすぐに処理されるためではないか⁹⁾、また BCG の存在下で作られる抗体は、T 細胞を抑制するような複合体を作りにくいのではないか²⁶⁾といった考え方もなされている。一方 BCG が直接 T 細胞の強い増殖を促すこと、あるいは suppressor cell の産生を抑制することも考えられる。

次に BCG の右足臍接種の抗体産生系に及ぼす作用を、BCG 接種所属リンパ節である右膝窩リンパ節と脾臓についてのおの PFC を測定することにより比較検討した。右膝窩リンパ節の PFC は、遅延型反応と経時的に同じ推移をたどり、BCG 右足臍接種後の右膝窩リンパ節で盛んに行なわれる細胞増殖は、T 細胞のみならず B 細胞においても行なわれていることを示している。それに対し、脾臓の PFC は血清抗体価の推移をよく反映し、B 細胞の増加が所属リンパ節と脾臓においては、時期が異なることを示している。そこで右膝窩リンパ節、脾臓、腋窩リンパ節の3カ所における BCG 接種後の異なつた2時期 (5週, 10週) の PFC を比較検討すると時間の経過とともに PFC の増加は、右膝窩リンパ節、脾臓、腋窩リンパ節の順にみられ、BCG の影響が上行性にみられることを示している。すなわち右足臍に接種された BCG が移動していき、後期に脾臓を賦活化することにより抗体産生の上昇がみられること、また BCG の移動とともに抗原のリンパ流、血流を通じての移動も大きくなり、次第に全身的に免疫反応の賦活が起こっていくことが考えられる。

結 語

マウスにおいて、BCG 生菌の免疫強化作用の作用様式を長期間にわたって追究した。SRBC を抗原として使用した。その結果、①BCG 接種による免疫強化作用は、BCG と抗原の同時投与よりも、BCG 接種後ある間隔を置いて、その接種局所に抗原を感作したときに強く誘起されることがわかった。すなわち遅延型反応に対する増強作用は、BCG 接種後3週頃より起こり始め、5~7週がピークとなり、これは BCG に対するツベルクリン反応の成立、増強時期とほぼ一致した。一方血中抗体産生は、遅延型反応の減弱し始める遅い時期にピークに達することがわかり、以上より BCG の免疫強化作用は二相性を示すことがわかった。②BCG 接種局所の所属リンパ節と脾臓の PFC を経時的に比較検討すると、所属リンパ節の PFC は遅延型反応の推移とよく一致し、脾臓の PFC は血清抗体価をよく反映することがわかった。

(稿を終るにあたり、ご指導とご校閲を賜つた、恩師杉山浩太郎教授、石橋凡雄講師に衷心より感謝いたします。なお、本研究の要旨は第50回、第51回日本結核病学会総会において発表しました。)

文 献

- 1) Old, L. J., Benacerraf, B., Clarke, D. A., Carswell, E. A. and Stockert, E.: *Cancer Res.*, 21: 1281, 1961.
- 2) Halpern, B. N., Biozzi, G., Stiffel, C. and Mouton, D.: *C. R. Soc. Biol.*, 153: 919, 1959.
- 3) Biozzi, G., Stiffel, C., Halpern, B. N. and Mouton, D.: *Ann. Inst. Pasteur.*, 94: 681, 1958.
- 4) Stern, K. and Dewelius, A.: *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.*, 2: 348, 1958.
- 5) Old, L. J., Clarke, D. A. and Goldsmith, M.: *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.*, 3: 49, 1959.
- 6) Mathé, G., Amiel, J. L., Schwarzenberg, L., Schneider, M., Cattani, A., Schlumberger, J. R., Hayat, M. and Vassal, F.: *Lancet.*, 1: 697, 1969.
- 7) Morton, D. L., Eilber, F. R., Malmgren, R. A. and Wood, W. C.: *Surgery.*, 68: 158, 1970.
- 8) Miller, T. E., Mackaness, G. B. and Lagrange, P. H.: *J. Natl. Cancer Inst.*, 51: 1669, 1973.
- 9) Mackaness, G. B., Lagrange, P. H. and Ishibashi, T.: *J. Exp. Med.*, 139: 1540, 1974.
- 10) Gray, D. F. and Jennings, P. A.: *Am. Rev. Tuberc.*, 72: 171, 1955.
- 11) Jerne, N. K. and Nordin, A. A.: *Science.*, 140: 405, 1963.
- 12) Jerne, N. K., Nordin, A. A. and Henry, C.: *Cell-bound antibodies.*, Wister Institute Press, Philadelphia, p. 109, 1963.
- 13) Zinsser, H. J.: *J. Exp. Med.*, 34: 495, 1921.
- 14) Freund, J.: *Adv. Tuberc. Res.*, 7: 130, 1956.
- 15) Crowle, A. J., Hu, C. C. and Patrucco, A.: *J. Aller-*

- gy., 42 : 140, 1968.
- 16) 原田泰子 : 結核投稿中.
 - 17) Salvin, S. B. : J. Exp. Med., 107 : 109, 1958.
 - 18) Uhr, J. W., Salvin, S. B. and Pappenheimer, A. M. : J. Exp. Med., 105 : 11, 1957.
 - 19) Uhr, J. W. : Physiol. Rev., 46 : 359, 1966.
 - 20) Lagrange, P. H., Mackaness, G. B. and Miller, T. E. : J. Exp. Med., 139 : 528, 1974.
 - 21) Mackaness, G. B., Lagrange, P. H., Miller, T. E. and Ishibashi, T. : J. Exp. Med., 139 : 543, 1974.
 - 22) Morikawa, S., Baba, M., Harada, T. and Mitsuoka, A. : J. Exp. Med., 145 : 237, 1977.
 - 23) Dienes, L. and Schoenheit, E. W. : J. Immunol., 19 : 41, 1930.
 - 24) Mackaness, G. B., Auclair, D. J. and Lagrange, P. H. : J. Natl. Cancer Inst., 51 : 1655, 1973.
 - 25) Sher, N. A., Chaparas, S. D., Pearson, J. and Chirigos, M. : Infect. Immun., 8 : 736, 1973.
 - 26) Lagrange, P. H. and Mackaness, G. B. : J. Exp. Med., 141 : 82, 1975.