

原 著

 β -1, 3グルカンによる結核感染防御力の増強

金井 興美・近藤 瑩子

国立予防衛生研究所細菌1部・結核部

受付 昭和55年5月1日

 β -1, 3 GLUCAN AS AN IMMUNOPOTENTIATOR AGAINST
EXPERIMENTAL TUBERCULOUS INFECTION IN MICE

Koomi KANAI* and Eiko KONDO

(Received for publication May 1, 1980)

Intravenous injection of β -1,3 glucan obtained from cell walls of *Saccharomyces cerevisiae* induced marked splenomegaly in ddY mice and inhibited the multiplication of infecting tubercle bacilli in that organ.

緒 言

近年、免疫学の急速な進歩に伴つて、その実用的な一面としての免疫応答増強の試みが、新しい理論的な背景を踏まえて再登場している。そうした免疫増強剤の一つとして真菌類より得られるグルカンの効果が報告され、わが国においては、*Lentinus edodes* より抽出される lentinan¹⁾、*Schizophyllum commune* より分離される schizophyllan²⁾がすでに広範な研究成果を得ている。これらのグルカンは直鎖の β -1, 3 ポリグルコースであつて、そのグルコース残基 3 個に対して 1 個あるいは 2 個の割合で、1 分子のグルコースが分岐しているという。

これに対して欧米においては、*Saccharomyces cerevisiae* の細胞壁より得られる β -1, 3 グルカンつまりザイモザンの有効成分が主として実験的研究の対象となつている³⁾。

グルカンの抗酸菌感染に対する影響をみた仕事としては、schizophyllan について南雲⁴⁾、小松ら⁵⁾の結核菌を用いた研究があり、イーストグルカンに関しては、Delville と Jacques⁶⁾ のらい菌を対象とした報告がある。

しかし臨床結核においては、RFP、INH を中心薬剤とした強力な化学療法がある現在、免疫増強剤がそれにとつてかわる可能性はまず考えられない。ただ、治療中

止後における再発防止のため、宿主抵抗性を増強することに利用価値が期待されるならば、その可能性を実験的に検討することには意味がある。また、そうした実験的研究を通して、再発における宿主免疫力の関与をあらためて分析しうることにもなる。

私たちは再発防止を目的としたイーストグルカンの効果をマウスで検討したが、本報告ではまず、その予備観察として行なつた結核感染防御実験について述べる。

材料と方法

動物は市販 ddY 系マウスを使用した。感染用結核菌には H₃₇RvR-KM 株を、免疫用には BCG 日本株を用い、それぞれソートン培地発育菌体より水浮遊液をつつて静注感染に供した。臓器よりの定量的感染菌分離には、水で組織乳剤をつくり、その連続10倍希釈系列をカナマイシン 100 μ g/ml 含有小川培地に接種した。

β -1, 3 グルカンはベルギーの Dr. Jacques (Biochemical Cytology and Parasitic Diseases, CIRMAP, Brussels, Belgium-1200) から送付されたイーストグルカン (Lot B-16) である。1 回量 0.5 mg ないし 0.25 mg を静注投与した。一つの対照としてコーチゾンアセテート (メルク 萬有) を使用した場合は、その 5 mg を腹腔内に投与した。

* From the First Department of Bacteriology and Department of Tuberculosis, National Institute of Health, 2-10-35, Kamiyosaki, Shinagawa-ku, Tokyo 141 Japan.

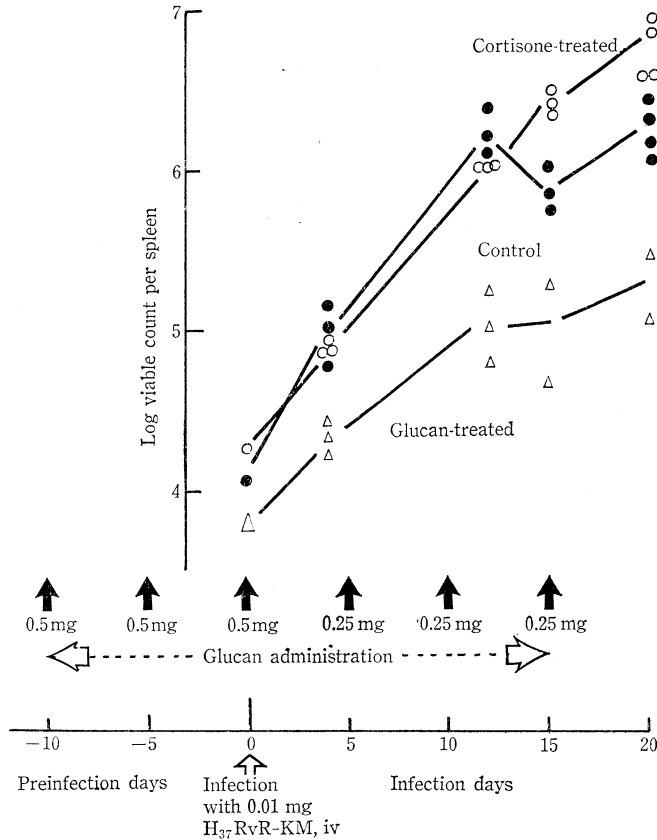


Fig. 1. Effect of intravenous glucan-administration on the fate of tubercle bacilli in the mouse spleen.

成績

1) それぞれ14匹よりなる3群のマウスを用意し、H₃₇RvR-KM株の0.01 mgで一様に静注感染した。うち1群には感染前10日より始めて5日おきにグルカンを6回投与した。前の3回は0.5 mg、後の3回は0.25 mgを1回投与量とした。他の1群にはコルチゾン5 mgをはじめは2日に1度で7回、そのあと連日投与で9回腹腔投与した。

この間、感染直後に各群より1匹ずつ、そのあと経時的に3匹ずつ無作為にサンプリングして剖検し、脾を摘出してその組織内感染菌数を定量培養法によって20日間にわたって追求した。実験途中、グルカン投与動物において3匹の注射後死亡があつた。成績は図1に示した。

グルカン投与群においては、感染菌の増殖は明瞭に抑制を受け、生菌単位数にしてほぼ対照の1/10のレベルで消長している。一方、コルチゾン投与群においては、15日以後にはその感染菌数は対照群を上回つた。図は対数表示であるので、その実数の差はかなり大きいことになる。以上のように感染菌数の消長において、グルカン

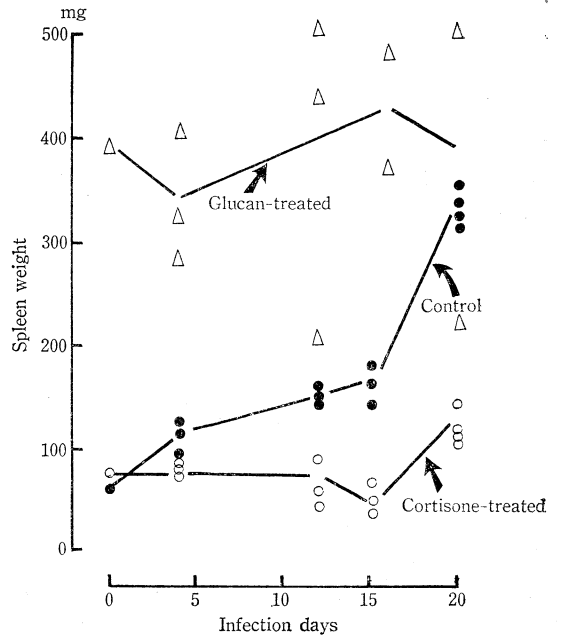


Fig. 2. Spleen-enlargement of the glucan-treated mice in the experiment as shown in Fig. 1.

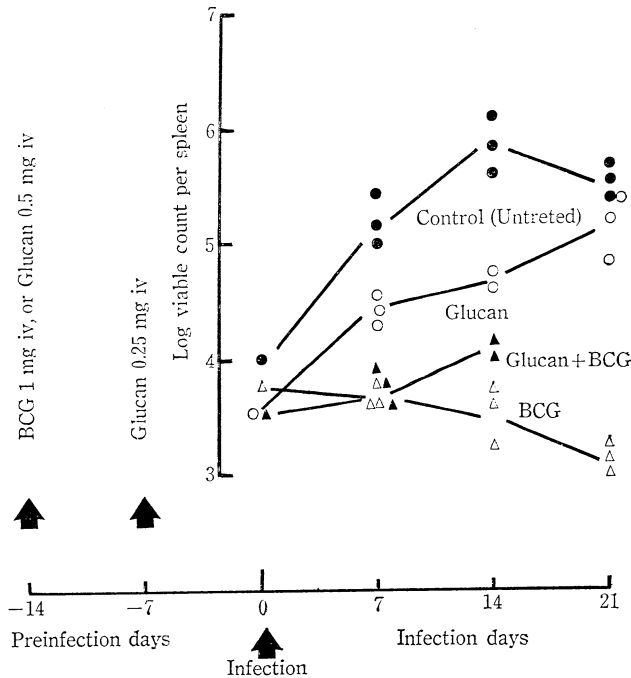


Fig. 3. Infection-preventive effect of single or combined administration of glucan and BCG in tuberculous mice.

群とコーチゾン群とは逆の傾向を示したといえる。

図2は各群における脾重量の経時的変化を示したものである。対照群では感染のみによる脾重量変化がみられ、脾における菌数がピークに達した以後に急激に脾腫がきており、出発時の4倍ほどに腫脹した。コーチゾンはこの脾腫を顕著に抑制し、他方グルカン前処置によつて、感染時にすでに5倍ほどに脾重量は上昇している。しかし、この脾腫は感染の進展によつて更に多少増大するものもあり、逆に萎縮するものもあり、個体差が大きい。図1の生菌数はこうした脾全体のそれに換算したものであるから、グルカン処置動物における単位脾重量中の生菌数は一層少なく、他の群のそれとの開きがより大きくなるわけである。

なお、体重は対照群においては実験期間中平均30gから35gへの増加、グルカン処置群は30gから32gへの増加を示し、コーチゾン注射群では25gないし28gにとどまつたが、いずれの群も全身的には異常を認めずに終始した。

2) それぞれ10匹ずつの4群のマウスを用意した。いずれの群をも $H_{27}RvR$ -KM 株の0.01 mg で一様に静注感染したが、うち1群はその14日前に BCG 1 mg の静注をうけており、他の1群は感染前の14日と7日にそれぞれグルカン 0.5 mg と 0.25 mg の静注をうけた。更に他の1群は BCG とグルカン両者によつて上述のような処置をうけた。

感染時には各群より1匹、感染後には7日おきに3匹

ずつをサンプリングして、脾における感染菌数を定量培養によつて測定した。成績を図3に示した。BCG 接種後に2度目のグルカン投与をうけた動物のうち4匹が死亡し、この群における感染21日後の剖検は不可能となつた。

図3は BCG による極めて顕著な感染菌増殖阻止効果を示すと同時に、グルカンによる前処置のみでもかなりの効果の得られることを示している。しかし BCG 接種動物へのグルカン追加処置は、附加効果がなかつたばかりでなく、一部の動物を斃死に至らしめた。

考 察

β -1,3 グルカンが網内系細胞を刺激し、肉芽性細胞を惹起することについてはすでに多くの報告がある^{7,8)}。この細胞反応が感染防御の基盤となつている可能性は極めて高いと考えられ、私たちが経験したグルカン静注による脾腫も、この組織における感染結核菌の増殖抑制効果と密接な関係があることが推定される。

イーストグルカンによる感染防御実験が、これまでらい⁹⁾、カンジダ⁹⁾、ライシュマニア¹⁰⁾など、マクロファージを宿主細胞とする感染症で認められていることも興味深い。

私たちの静注投与量はマウス当たりで0.5 mg、あるいは0.25 mg であつたが、Williams ら⁹⁾、Holbrook ら¹⁰⁾は0.45 mg を用いており、いずれも静注投与で数回の感染前投与で効果を挙げている。この用量のレジメンが

マウスにおいては限界であろうことは私たちの経験からも察知されるところであり、より以上の増量投与はむしろ傷害作用が大きくなり、また必ずしも効果的とはいえないようである。

また、脾腫を指標とするグルカンに対する肉芽性反応はマウス系統によつて大きく異なることが報告され、C56 Black では強く、Swiss albino で弱いことは興味深い¹¹⁾。ddY も顕著な脾腫をもつて反応し、防御力も賦与されることからグルカン反応性の強い系統といえる。

更にまた臓器によるちがひもあり、成績は省略したが、グルカン投与は脾における菌増殖を阻止しえても、同じ個体の肺における菌増殖阻止効果ははるかに弱い。グルカンとは逆に、宿主防御力を抑制して感染菌の増殖を促すコーチゾンも、その効果は脾で強く、肺では弱い¹²⁾。これらの事実はグルカンが脾における免疫関与細胞に強く作用している可能性を示唆している。

しかし BCG とグルカンの併用は必ずしも効果が加わつたともみえず、むしろマイナス面の方が強い結果であつた。この理由ははつきりしないが、すでに BCG によつて刺激されている免疫系細胞に対して、グルカンの過剰作用による細胞傷害の可能性も考えられる。とすればこの場合は、むしろ少量のグルカンを用いることが適切かもしれない、BCG との併用は今後の量的検討を必要としている。

イーストグルカンと同時に Schizophyllan も網内系細胞に作用することが組織学的検討から示されているが¹³⁾、これらに対して lentinan は T-リンパ球に対するアジュバントといわれ、マウス肺における肉芽性細胞反応をも修飾することが報告されている¹⁴⁾。物質的にほとんど近

縁なこれら多糖体が、その作用細胞を異にするとすれば、今後の重要な検討項目であろう。

結 論

Saccharomyces cerevisiae の細胞壁より抽出された β -1,3 グルカンの静注投与によつて、マウスの脾は顕著な腫大を示し、また脾における感染結核菌の増殖は抑制された。

文 献

- 1) Chihara, G. et al.: *Cancer Res.*, 30 : 2776, 1970.
- 2) 菊本昭一他 : 日本農芸化学会誌, 44 : 337, 1970.
- 3) Riggi, S. L. and Diluzio, N. R.: *Am. J. Physiol.*, 200 : 297, 1961.
- 4) 南雲 昇 : *Japan. J. Antibiotics*, 27 : 101, 1974.
- 5) 小松信彦他 : *Japan. J. Antibiotics*, 26 : 61, 1973.
- 6) Delville, J. and Jacques, P. J.: *Abstract for Intern. Conf. Immunopharmacol.* Brighton, 1980.
- 7) Deiman, W. and Fahmi, H. D.: *J. Exp. Med.*, 149 : 883, 1979.
- 8) DiLuzio, N. R.: *J. Reticuloendothel. Soc.*, 7 : 731, 1970.
- 9) Williams, D. L. et al.: *J. Reticuloendothel. Soc.*, 23 : 479, 1978.
- 10) Holbrook, T. W. et al.: *Program of Abstracts of Papers for the 16th National Meeting of the Reticuloendothel. Soc.*, 18a, 1979.
- 11) Jacques, P. J. and Hennekinne, M. F.: *Abstracts of Papers for the 2nd Pan Amer. Bacteriol. Soc.*, Caracas, 1978.
- 12) Kondo, E. and Kanai, K.: *Japan. J. Med. Sci. Biol.*, 30 : 209, 1977.
- 13) 小松信彦他 : *Japan. J. Antibiotics*, 28 : 549, 1975.
- 14) Byram, J.E. et al.: *Am. J. Pathol.*, 94 : 201, 1979.