

原 著

非定型抗酸菌の前感染が BCG 免疫に及ぼす影響

I. 遅延型アレルギー

中村 玲子・後藤 義孝・木ノ本 雅通

国立予防衛生研究所・細胞免疫

受付 平成2年1月22日

EFFECT OF ATYPICAL MYCOBACTERIAL INFECTION
ON THE CELL-MEDIATED IMMUNITY INDUCED
BY *MYCOBACTERIUM BOVIS* BCG IN MICE

I. Suppression of Delayed-type Hypersensitivity

Reiko M. NAKAMURA*, Yoshitaka GOTO and Masamichi KINOMOTO

(Received for publication January 22, 1990)

Mycobacterium avium Mino grows well in the lung, spleen or liver of susceptible mice, such as C57BL/6, C57BL/10, and B10 congenics. Infection with Mino inhibited the induction of delayed-type hypersensitivity (DTH) to BCG in the mouse receiving subcutaneous injection of BCG 2 weeks later. Post-infection with Mino did not affect DTH to BCG already established. Preceding infection with avirulent strains of atypical mycobacteria weakly suppressed the induction of DTH by BCG. On the other hand, Mino infection did not affect DTH to SRBC. DTH to Mino and DTH to BCG detected by PPD-I and PPDs hardly showed cross-reactivity. These results suggest that tuberculin skin reaction after BCG vaccination could be suppressed by the infection with atypical mycobacteria in humans, especially where these bacterial infections are prevailing.

Key words: Atypical mycobacteria, Suppression of BCG, DTH

キーワードズ: 非定型抗酸菌, BCG 免疫の抑制, 遅延型アレルギー

緒 言

非定型抗酸菌 *Mycobacterium avium*-*intracellulare* complex (MAC) はトりに病原性を示すが、ヒトやその他の哺乳類に対する病原性は低く、これが原因となる感染症の例はさほど多くない。とはいえ、最近の

報告では関東地区の13の病院から、5年間に110例の非定型抗酸菌症(排菌例)があった¹⁾。MACは抗結核剤に抵抗性であるため、いったん病因菌となった場合は治療に多大の困難を伴う。一方、MACはヒトの生活環境に常在する菌で、AIDSや他の免疫不全状態で日和見感染の原因となりやすい²⁾。そうすると、化学療法が無効

* From the Department of Cellular Immunology, National Institute of Health, Kamiosaki, Shinagawa-ku, Tokyo 141 Japan.

のため重篤な結果となる。

私たちは MAC のマウス感染実験系において *M. avium* Mino 株が感受性マウスの体内で増殖を続け、ついに宿主を殺すことを報告した³⁾⁴⁾。この感染系では遅延型アレルギーが誘導されず、それがサプレッサー T 細胞による抑制であることも報告した。MAC 感染で誘導されるサプレッサー T 細胞が、抗原特異性において BCG と交差することが知られた⁴⁾ので、*in vivo* における MAC の感染がその個体の BCG 免疫の誘導にどのような影響を及ぼすかを検討した。その結果、非定型抗酸菌の前感染が BCG ワクチンによる免疫誘導効果を抑制することが明らかとなったので報告する。

材料および方法

マウス：近交系 C57BL/10, B10. BR の 6~8 週齢の♂を用いた。マウスは日本 SLC より購入した SPF である。

抗酸菌：*Mycobacterium avium* Mino^(注1) および *M. bovis* BCG (Tokyo) は、本研究室保存の菌株を Middle brook 7H9 培地で振とう培養し、増殖期の菌を集めて 5×10^7 /ml の濃度として分注、 -70°C に保存した。実験に際しては、これを融解して用いた。*M. avium*-*intracellulare* S 275^(注2) は埼玉衛研より分与された。*M. intracellulare* P39 は ATCC 15984 である。いずれも Middlebrook 7H9 で培養し、分注して -70°C に保存したものをを用いた。

(注1) Mino 株は、これまで *M. intracellulare* とされていた³⁾⁴⁾が、Gene Probe 社の DNA-probe により、*M. avium* であることが判明した(後藤、未発表)。

(注2) S 275 は患者分離株である。DNA-probe による種の同定はされていない。

遅延型アレルギーの測定：BCG に対する遅延型アレルギーを精製ツベルクリン (PPDs) で、Mino に対する遅延型アレルギーを *M. avium* の精製タンパク PPD-I で検出した。生菌 10^7 を皮下感作したマウスに、 $10 \mu\text{g}$ の PPD を $50 \mu\text{l}$ の生理的食塩水に溶解して、後足趾に注射し、24, 48 時間後の足趾の腫張をダイヤル・シックネス・ゲージ(尾崎製作所)で測定した。注射前の足趾の厚さを測定値から減じたものを足趾反応として、遅延型アレルギーの指標とした。羊赤血球 (SRBC) に対する遅延型アレルギーは、SRBC 10^8 を足趾に注射後 5 日目に反対側の足趾に 10^8 の SRBC を注射し、24 時間後の足の腫張を測定することにより検出した。測定値は $\frac{1}{100}$ mm 単位で表した。

結 果

遅延型アレルギーの抗原特異性

B10. BR マウスを BCG または Mino の生菌 10^7 で

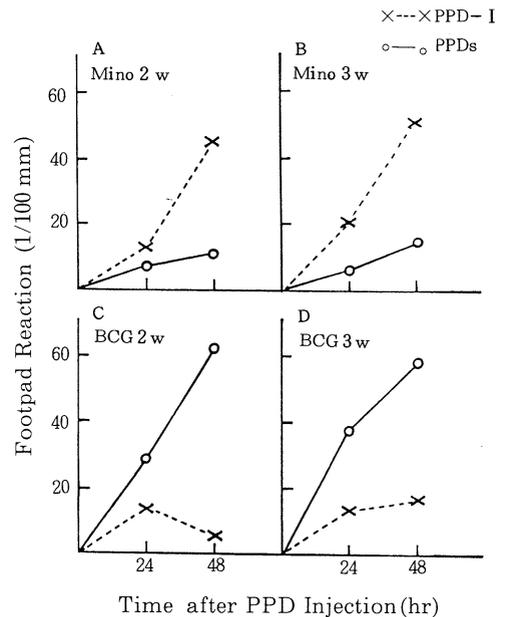


図 遅延型アレルギーの抗原特異性

B10. BR マウスに BCG または Mino 生菌 10^7 を皮下注射し、2 週または 3 週後に一方の後足趾に PPDs、他方の足趾に PPD-I を注射し、24, 48 時間後の足趾反応を測定した。

A : Mino 感作 2 週後, B : Mino 感作 3 週後, C : BCG 感作 2 週後, D : BCG 感作 3 週後。1 群 5 匹。

皮下感作し、2 週および 3 週後に PPDs および PPD-I $10 \mu\text{g}$ に対する足趾反応を測定した。同一個体の右後足に PPDs を、左後足に PPD-I を注射して、抗原特異性を検定した。図に示すように、BCG 感作個体は PPDs に対し強い遅延型アレルギーを示すが、PPD-I に対してはほとんど反応しない。反対に、Mino 感作個体は PPD-I に対し強く反応するが、PPDs に対する反応は弱い。どちらの感作でも、2~3 週後に著明な抗原特異的反応がみられるが、Mino 感作では 3 週後が、BCG 感作では 2 週後の反応が強かった。このように、BCG と Mino の間には、遅延型アレルギーにおける抗原特異性が存在することが明らかである。

Mino の前感染が BCG 免疫に及ぼす影響

Mino 生菌 10^4 または 10^6 を B10. BR マウスに静脈内注射し、その 2 週後に同じマウスに BCG 10^7 を皮下注射した。BCG 注射 2 週後に PPDs に対する遅延型アレルギーを、足趾反応によって検出した。対照として、Mino を静注しないマウスに BCG 感作を行い、2 週後の足趾反応を測定した。

Mino 前感染群では、対照の BCG 感作単独の群と比較して著明に遅延型アレルギーの抑制が認められた。抑

表1 Mino 前感染によるBCG免疫の抑制

Mino 菌量	BCG感作*	足蹠反応**	(抑制%)
0	+	62.5 ± 16.0	(0)
10 ⁴	+	48.7 ± 10.8	(22.0)
10 ⁶	+	12.5 ± 7.2	(80.0)

* 10⁷ SC

** 1/100 mm 単位

表2 非定型抗酸菌3株のBCG免疫抑制効果

前感染菌株	菌量	BCG感作*	足蹠反応**	(抑制%)
—		+	69.8 ± 18.7	(0)
Mino	10 ⁶	+	18.0 ± 8.1	(74.2)
S 275	10 ⁶	+	26.6 ± 9.6	(61.8)
P 39	10 ⁶	+	54.0 ± 11.9	(22.6)

* 10⁷ SC

** 1/100 mm 単位

表3 Mino 前感染とSRBCに対する遅延型アレルギー

Mino前感染	菌量	SRBC感作*	足蹠反応**	(抑制%)
—		+	57.0 ± 16.4	(0)
+	10 ⁶	+	51.0 ± 9.1	(10.5)
+	10 ⁶	—	10.5 ± 1.9	(—)

* 10⁸ 足蹠内

** 1/100 mm 単位

抑制の程度は、前感染したMinoの菌量に平行した。Mino前感染のみでBCG感作を行わない群では、PPDsに対する遅延型アレルギーは認められなかった(表1)。

弱毒MACの前感染がBCG免疫に及ぼす影響

マウスに対し毒力の弱い非定型抗酸菌であるS275とP39をそれぞれマウス当たり10⁶静注し、2週後にBCG生菌皮下感作し、さらに2週後にPPDsで遅延型の足

蹠反応を検出した。対照として、Mino 10⁶前感染群とBCG感作のみの群をおいた。マウスは1群5匹のB10.BRを用いた。S275はマウスの体内で持続感染するが増殖はしない。P39はマウスの体内で菌が消滅してしまう弱毒株である。これら3株のMACによるBCG免疫の抑制効果は、表2にみられるように、毒力の強い株ほど強いことが知られた。

Mino前感染が羊赤血球に対する遅延型アレルギーに及ぼす影響

C57BL/10マウスにSRBC 10⁸を後足蹠に注射し、5日後のSRBCに対する遅延型アレルギーを、反対側の足蹠に10⁸のSRBCを注射、24時間後に測定した。この系において、マウスにSRBC投与2週間前にMino 10⁶を静注した場合、SRBC感作に及ぼす影響を検討した。表3にみられるように、Mino 10⁶の前感染は、SRBCの遅延型アレルギーに対し何ら影響を与えなかった。Mino 10⁶の静注のみではSRBC惹起抗原注射に対し反応を示さなかった。この結果から、非定型抗酸菌の前感染は、無関係な抗原に対する細胞性免疫を増強も抑制もしないことが知られた。

BCG感作マウスにMinoを後感染させた場合の遅延型アレルギー

B10.BRマウスにBCG生菌10⁷を皮下注射し、その後さまざまな間隔でMino 10⁶を後感染(静注)した場合、BCG注射後3週における遅延型アレルギーにどのような影響が現れるかを検討した。BCG注射とMino静注の間隔は0, 3, 7日とし、対照としてMino投与しない群と、Mino 10⁶前感染群をおいた。遅延型アレルギーはPPDsによって惹起した。表4にみられるように、Mino感染がBCG感作の7日後では効果なく、BCG感作に近くMinoを後感染させるほど抑制が強いことが知られた。しかし、いずれの場合もMino前感染より弱い抑制であった。

表4 BCG感作マウスにMino後感染の遅延型アレルギーに対する影響

実験	Mino前感染*	BCG感作**	Mino後感染*	足蹠反応**	(抑制%)
I	—	+	—	57.4 ± 19.6	(0)
	+	+	—	8.2 ± 5.3	(85.7)
II	—	+	—	91.0 ± 19.3	(0)
	—	+	+(0 d)	48.0 ± 4.2	(47.2)
	—	+	+(3 d)	61.6 ± 29.2	(32.3)
	—	+	+(7 d)	82.0 ± 17.8	(9.8)

* 10⁶ iv** 10⁷ SC

*** 1/100 mm 単位

考 察

私たちは、すでに非定型抗酸菌の感染によって誘導されるサブプレッサー T 細胞が、BCG による遅延型アレルギーの成立を抑制することを報告した⁴⁾。今回、*in vivo* において非定型抗酸菌の前感染がその後の BCG 感作を抑制することが明らかになった。この機作は、サブプレッサー T 細胞の交差反応性によるものと考えられる⁴⁾。また、同一個体において、非定型抗酸菌の前感染が SRBC に対する遅延型アレルギーにはまったく影響を及ぼさなかったことも、すでに報告した細胞移入実験の結果と矛盾しない。このように、MAC の感染が BCG の免疫効果を抑制することは、自然環境においても、MAC の共存が結核免疫に抑制的な影響を与える可能性を示している。例えば、非定型抗酸菌の感染が多いと予測されるような地域では、BCG 免疫の効果をツベルクリン反応で判定することは困難であろう。また、BCG の効果の判定ではないが、南インドでの WHO のフィールドトライアル⁵⁾ においては、ツベルクリン反応陰性者を結核非感染者と分類しその後の追跡をすすめているが、この地方に非定型抗酸菌の感染が多いことを考えると、陰性者の中には非定型抗酸菌感染によりツ反が抑制されていた人があるかもしれないと思わせる。現在これを判定する方法はなく、あくまでも可能性としかいえないが、フィールド調査の場合考慮しなければならない点と思われる。

結核免疫の成立した個体では、マクロファージが活性化されて、抗原的に交差しないリステリアに対して抗菌作用を示したり⁶⁾、腫瘍細胞傷害性を示したりする⁷⁾。活性化マクロファージが MAC に対し殺菌的に働くかどうかはいまだ明確でないが、吉野らはヒトの非定型抗酸菌症において化学療法により病状が改善されたと報告している¹⁾。MAC 症の約 40% に肺結核の基礎疾患があったということであるから、化学療法により結核菌が減少し宿主の結核免疫が増強され、マクロファージが活性化した結果、MAC に対しても抵抗性を示したのではないかと考えられる。

他方では、BCG と MAC の間に遅延型アレルギーの交差が弱いため、BCG 免疫が成立していても MAC が増殖する可能性もあり、この点は現在検討中である。しかしながら、MAC が AIDS の日和見感染菌として問題になりつつある現在²⁾⁸⁾、薬剤による治療が期待でき

ないため、MAC の感染の免疫学的機序の解明は MAC 症対策の重要な課題であると考えられる。

遅延型アレルギーと抗菌免疫がエフェクターレベルで解離するという報告があり⁹⁾、MAC 前感染が BCG の抗菌免疫にどのような影響を及ぼすかは興味ある問題で、現在検討をすすめている。

文 献

- 1) 吉野邦雄, 草島健二, 大石不二雄他: 地域病院における非定型抗酸菌症の現状—*M. avium* complex 症の予後における治療群と未治療群の比較, 結核, 64: 747~752, 1989.
- 2) 戸井田一郎: AIDS とミコバクテリア感染, 呼吸器疾患・結核文献の抄録速報, 40: 169~189, 1989.
- 3) Goto, Y., R. M. Nakamura, H. Takahashi et al.: Genetic control of resistance to *Mycobacterium intracellulare* infection in mice, *Infect Immun*, 46: 135~140, 1984.
- 4) Nakamura, R. M., Y. Goto, K. Kitamura et al.: Two types of suppressor T cells that inhibit delayed-type hypersensitivity to *Mycobacterium intracellulare* in mice, *Infect Immun*, 57, 779~784, 1989.
- 5) Tuberculosis Prevention Trial: *Bull. W. H. O.* 57, 819~827, 1979.
- 6) Blanden, R. V., M. J. Lefford and G. B. Mackaness: The host response to Calmette-Guérin bacillus infection in mice, *J Exp Med*, 129: 1079~1107, 1969.
- 7) Tokunaga, T., T. Kataoka, R. M. Nakamura et al.: Mode of antitumor action of BCG, *GANN Monogr Cancer Res*, 21: 59~72, 1978.
- 8) 戸井田一郎: AIDS とミコバクテリア感染, 結核, 64: 487~497, 1989.
- 9) Orme, I. M. and F. M. Collins: Adoptive protection of the *Mycobacterium tuberculosis*-infected lung: Dissociation between cells that passively transfer protective immunity and those that transfer delayed-type hypersensitivity to tuberculin, *Cell Immunol*, 84: 113~120, 1984.