



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	卵黄の結核菌毒力に及ぼす影響：第5報 モルモットに於けるBCG散布に及ぼす卵黄の影響とBCG免疫効果との関係
Author(s)	山本, 健一; YAMAMOTO, K.; 萩原, 昭男 他
Description	
Citation	結核の研究, 8, 4-8
Issue Date	1958-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/26637
Type	departmental bulletin paper
File Information	8_P4-8.pdf



卵黄の結核菌毒力に及ぼす影響

第5報 モルモットに於ける BCG 散布に及ぼす 卵黄の影響と BCG 免疫効果との関係

山本 健一

(北海道大学結核研究所予防部)

萩原昭男 伊藤幹夫

(北海道大学結核研究所病理部)

(昭和33年1月14日受付)

緒 言

前報¹⁾に於て、卵黄を Adjuvant として BCG をモルモットの皮下に接種すると、100 倍量の BCG を Adjuvant なしに接種した場合に比較し、それに劣らない「ツ」アレルギー及び感染防禦効果が発現することを報告した。この機作に関しては先の報告に於て考察したが、結局はモルモットに接種された BCG が卵黄の何らかの働きによつて旺盛な増殖を起して、充分な抗原刺激をモルモットに賦与するためであろうと考えた。

そこで、今回は果して実際に動物体内で、そのような BCG の増殖が起るか否かを確かめるため、卵黄を Adjuvant としてモルモットに接種し、体内に於ける BCG 生菌数の消長或は散布の度合を追求した。

実 験 方 法

各群 23 匹の健康モルモットにソートン 10 日培養 BCG を第 1 群には蒸溜水浮游 1/100 mg, 同様に第 2 群には 1 mg, 更に第 3 群には 50% 卵黄水浮游菌液 1/100 mg を夫々右下腹部皮下に注射量 0.4 ml として接種した。この際の BCG の生菌単位は 1 mg 当り 27×10^6 であつた

接種後日を追つて 3, 7, 14, 21 及び 35 日目に各群 3 匹宛をエーテルで死に至らしめ、BCG 接種局所、その近接淋巴腺である右膝窩淋巴腺、脾、肝及び肺について夫々小川培地を用いて定量培養法により単位重量中の BCG の生菌数を求めた。

又、21 及び 35 日目には、剖検前に被検モルモット更に 35 日目には残りの全動物について 100 倍旧ツベルクリン液で「ツ」皮膚アレルギーをしらべた。

なお又、35 日目には卵黄を Adjuvant とした際の

BCG の免疫効果を再確認するために、各群生残モルモットの他に对照群を設け、これら全動物に人型毒力菌中

第 1 表 BCG 接種各群のツベルクリン反応

接種後 日数	第 1 群			第 2 群			第 3 群		
	動物 番号	反 応	群別 発赤 平均	動物 番号	反 応	群別 発赤 平均	動物 番号	反 応	群別 発赤 平均
21日	10	± 10×8	5.5 mm	33	+	15.0 mm	56	+	14.8 mm
	11	± 7×8		34	+		57	+	
	12	- 0×0		35	+		58	+	
35日	13	- 12×13	8.4	36	± 17×22	16.0	59	+	14.2
	14	- 0×0		37	+		60	± 18×25	
	15	± 13×14		39	+		61	- 0×0	
	16	± 10×11		40	+		62	± 20×20	
	17	- 7×7		41	+		63	+	
	18	- 0×0		42	± 13×15		64	+	
	19	- 8×9		43	± 17×25		65	+	
	20	- 7×7		44	+		66	+	
	21	+		45	+		67	± 18×25	
	22	- 12×11					68	+	
				69	+				

野株 1/200 mg を左下腹部皮下に接種した。この際の感染生菌単位は 35,000 であった。

感染後 52 日目に全動物をエーテルで殺し、剖検、淋巴腺並に内臓臓器の病変を肉眼的及び病理組織学的に検索し、同時に脾内の生菌数を小川培地を用いて定量培養法により求めた

実験成績

1) BCG 接種による「ツ」反応の発現

BCG 接種後 3 週目の剖検モルモット並に 5 週目の

全動物についての成績を第 1 表に示した。第 1 群は他の 2 群に比して、その反応は遙かに弱く、第 2 及び第 3 群間には殆ど差はなかつた。即ち前報に示されたと同様の結果が得られた。

2) 接種 BCG のモルモット体内に於ける散布の時間的推移

成績は第 2 表に示した。即ち接種局所に於ては第 1 群及び第 3 群を比較すると、最初の 2 週目迄は差は見られないが、それ以後では第 3 群の方が生菌数が多かつた。次に膝髌淋巴腺に於ても第 1 及び第 3 群を比較する

第 2 表 接種 BCG のモルモット体内に於ける散布の時間的推移

接種後日数	群動物番号	第 1 群				第 2 群				第 3 群			
		1	2	3	平均	24	25	26	平均	47	48	49	平均
3	局所	109×10 ³	102×10 ³	60×10 ³	90×10 ³	112×10 ⁵	129×10 ⁵	53×10 ⁵	98×10 ⁵	30×10 ³	10×10 ³	42×10 ³	27×10 ³
	淋巴腺	0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²	48×10 ²	1×10 ²	37×10 ²	14×10 ²	0×10 ²	0.3×10 ²	0.3×10 ²	0.2×10 ²
	肝	0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²		0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²		0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²	
	肺	0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²		0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²		0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²	
	脾	0×10 ²	0.6×10 ²	0×10 ²		0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²		0.3×10 ²	0×10 ²	0×10 ²	
7	局所	46×10 ³	0×10 ³	25×10 ³	24×10 ³	12×10 ⁶	9×10 ⁶	9×10 ⁶	10×10 ⁶	75×10 ³	12×10 ³	50×10 ³	46×10 ³
	淋巴腺	5×10 ²	0.6×10 ²	0×10 ²	1.9×10 ²	5×10 ²	126×10 ³	24×10 ²	43×10 ³	23×10 ³	4×10 ²	4×10 ²	17×10 ²
	肝	0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²		0×10 ²	2×10 ²	0.6×10 ²		0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²	
	肺	0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²		0×10 ²	0×10 ²	0.3×10 ²		0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²	
	脾	0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²		2×10 ²	0.3×10 ²	0.3×10 ²		0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²	
14	局所	16×10 ³	4×10 ³	12×10 ³	11×10 ³	48×10 ⁵	47×10 ⁵	85×10 ⁵	60×10 ⁵	0×10 ³	4×10 ³	10×10 ³	5×10 ³
	淋巴腺	4×10 ²	22×10 ²	0.3×10 ²	8.8×10 ²	69×10 ³	72×10 ³	8×10 ²	47×10 ⁴	3×10 ²	28×10 ³	60×10 ²	12×10 ³
	肝	0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²		0.6×10 ²	0×10 ²	4×10 ²		0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²	
	肺	0×10 ²	0×10 ²	0.6×10 ²		0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²		0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²	
	脾	0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²		3×10 ²	0×10 ²	13×10 ²		0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²	
21	局所	3×10 ²	0×10 ²	1×10 ²	1.3×10 ²	47×10 ⁵	76×10 ⁵	152×10 ⁵	92×10 ⁵	86×10 ²	7×10 ²	15×10 ²	36×10 ²
	淋巴腺	1×10 ²	0×10 ²	1×10 ²	0.7×10 ²	57×10 ³	76×10 ³	58×10 ³	54×10 ³	21×10 ³	3×10 ²	0×10 ²	71×10 ²
	肝	0×10 ²	0.3×10 ²	0×10 ²		0.3×10 ²	0.3×10 ²	1×10 ²		0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²	
	肺	0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²		0×10 ²	1×10 ²	0×10 ²		0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²	
	脾	0×10 ²	1×10 ²	0×10 ²		4×10 ²	23×10 ²	11×10 ²		0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²	
35	局所	1×10 ²	7×10 ²	16×10 ²	8×10 ²	18×10 ⁴	34×10 ⁵	17×10 ⁵	23×10 ⁵	16×10 ³	33×10 ²	24×10 ²	76×10 ²
	淋巴腺	0×10 ²	54×10 ²	128×10 ²	61×10 ²	16×10 ²	71×10 ²	89×10 ²	59×10 ²	57×10 ²	16×10 ²	0.3×10 ²	74×10 ²
	肝	0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²		0×10 ²	0×10 ²	0.3×10 ²		0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²	
	肺	0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²		0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²		0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²	
	脾	0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²		3×10 ²	5×10 ²	4×10 ²		0×10 ²	0×10 ²	0×10 ²	

と、3週目迄は第3群に於て第1群の約10倍以上の生菌数が見られた。これは勿論第2群より少いが接種量から考えると両群の差はかなり小さくなっている。脾、肝及び肺に於ては最後の5週目迄第1及び第3群では何れの臓器でも、殆ど生菌数は見られなかつた。第2群では脾に於てのみ第3週を頂点とする生菌数の推移を示すに

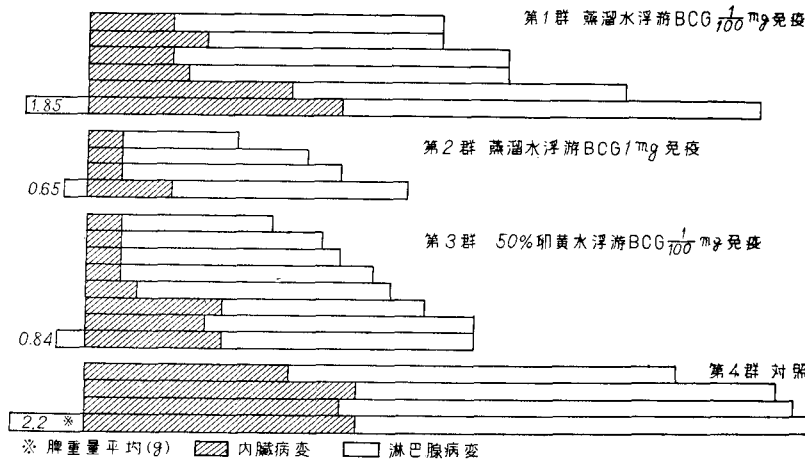
すぎなかつた。

3) 毒力菌感染各群モルモットの病変並に脾内生菌数

A) 肉眼的病変

肉眼的病変はヒストグラムとして第1図に示した。図に明らかな如く、第1群は対照群に比し病変は弱い

第1図 淋巴腺及び内臓臓器の肉眼的病変のヒストグラム



が、第2及び第3群よりは病変がかなり強かつた。免疫群中第2群が病変が最も軽かつた。

B) 病理組織学的所見

便宜上各種病変程度を数的に表示したのが第3表である。若干の説明を加えよう。

第1群：脾には全例広汎な増殖性結核病巣が存在し、No. 17を除いて全例に種々の程度の乾酪性病巣が認められた。しかし一般に対照群より程度は若干軽い。肺では1/3例に中等度の乾酪巣を有する類上皮細胞結節を見たが、他の例の病変は非常に軽く、殊にNo. 19, 20では血管周囲の円型細胞カプセル、及び限局的な胞隔肥厚として残っているにすぎない程度の病変の軽快像が認められた。肝では半数例に粗性の一般に小さい類上皮細胞結節の存在を見たにすぎずNo. 19, 20には全く病変を認めない。又乾酪巣は全例に認めることが出来なかつた。膝蓋淋巴節の病変は強く、対照群との間に差を見ない。腋窩淋巴節は1例のみに小結節の存在を認めただにすぎない。

第2群：脾ではNo. 45の1例のみに結節性病変を認めただにすぎない。他の例には全く、病変がなく、洞内に色素喰食細胞が多く、濾胞には芽中心の発達よく、旺盛な喰食現象を見せている。肺では半数例に小さな結節性病変を肋膜下に認め得た他の半数例には全く病変を見

ない。肝でもNo. 45の1例のみに退行変性の強い類上皮細胞からなる小結節を少数認めただに他の例は殆ど正常に近い。膝蓋淋巴節の病変も第1群に比し若干軽く、病巣周辺に多量の淋巴組織を認めることが出来た。腋窩淋巴節では1例のみに小病巣を認めた。

第3群：脾では約半数例に中等大の増殖性病巣を認め、その内1例に乾酪巣を認めた。他の半数例では脾髓の増殖が著明で、洞内に白血球の増量、担色素細胞を認める程度で、結核性病巣を認めえない。肺では病変のないNo. 63を除き全例にごとく小さな類上皮細胞結節を見た。又血管周囲に単核細胞性結節、限局性胞隔肥厚なども認められた。しかし対照群は勿論、第1群よりも遙かに病変度は低い。肝では約半数例に中等大結節をごく少数認め得たにすぎず、乾酪巣を示すものは1例もない。膝蓋淋巴節、腋窩淋巴節の病変は殆ど第2群のそれに匹敵する程度のものであつた。

対照群：全例脾には巨大な結節性病変が存在し、広汎な乾酪壊死巣を形成し、部分的に線維素の析出の著明な大出血巣を作つており、脾の構造を全く失つた場所も認められる。遺残した脾洞では内皮細胞の膨化脱落が顕著で、洞内には多量の白血球を容れている。肺もNo. 70の1例を除き全例に大きな類上皮細胞性結節を作つているのが認められ、中部乾酪化も特に著明である。肝にも

第 3 表 各群の病理組織学的所見

群別	動物番号	脾			肺		肝		膝蓋リンパ腺		腋下リンパ腺	
		病変程度	乾酪化	反応性変化	病変程度	乾酪化	病変程度	乾酪化	病変程度	乾酪壊死	病変程度	乾酪壊死
1	16	卅	卅	卅	卅	-	卅	-	卅	卅	-	-
	17	卅	-	卅	卅	卅	±	-	卅	卅		
	18	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	卅	卅	-	-
	19	卅	卅	卅	+	-	-	-	卅	卅	卅	-
	20	卅	卅	卅	+	-	-	-	卅	卅		
	22	卅	卅	卅	卅	±	卅	-	卅	卅	±	-
2	41	-	-	+	-	-	-	-	卅	卅	±	-
	43	±	-	卅	+	-	-	-	卅	卅	-	-
	44	-	-	±	±	-	-	-	卅	卅	-	-
	45	卅	+	卅	卅	-	+	-	卅	卅	±	-
	63	±	-	卅	-	-	+	-	卅	卅	-	-
3	64	卅	±	卅	+	-	-	-	卅	卅	-	-
	65	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	卅	卅		
	66	-	-	卅	+	-	-	-	卅	卅		
	67	卅	-	卅	卅	-	+	-	±	-	-	-
	68	±	-	卅	+	-	-	-	卅	卅		
	69	-	-	卅	+	-	-	-	卅	卅	-	-
4	70	卅	+	卅	卅	-	卅	+	卅	卅	-	-
	72	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	73	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	-
	75	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅

無数の結節形成が認められ、乾酪壊死も広汎に起つている。膝蓋リンパ腺は大半が増殖性病巣で置換され、その大部分が壊死巣と変つている。腋窩リンパ腺にも半数例に大きな壊死巣を有する病巣が認められた。

以上総括的に見ると、第1群は対照群より若干病変は軽く、第3群は著明な免疫効果を示した第2群には及ばないが、第1群よりは遙かに病変度は軽く、卵黄の添加がBCGの免疫力を強めた結果であると判断して差支えない所見と考えられる。

C) 脾内生菌数

各群の平均脾内生菌を瓦当りで示したのが第4表で

ある。表に明らかなように、肉眼的並に組織学的所見に

第4表 脾内生菌数 (g当り平均)

群別	生菌数	
第1群 蒸溜水浮游 BCG $\frac{1}{100}$ mg 免疫		180,333
第2群 蒸溜水浮游 BCG 1mg 免疫		23,625
第3群 50%卵黄水浮游 BCG $\frac{1}{100}$ mg 免疫		36,767
第4群 対照		517,500

平行して第 2, 3 群は第 1 群に比しその数は遙かに少なかった。

総括ならびに考察

卵黄を Adjuvant として、BCG をモルモットに接種した場合、強い「ツ」アレルギーと結核感染防禦効果が賦与されるのは、BCG がモルモット体内で卵黄の作用一特に我々はその物理的保護作用を考えているが—により旺盛な増殖を行う結果であろうと考えて、モルモット体内に於ける接種 BCG の増殖或は散布状態を日を追つて、リンパ腺及び臓器の定量培養で得られる生菌数から推定しようとした。その結果、接種局所では接種 3 週以後、その近接リンパ腺では 3 週迄で卵黄添加 BCG の生菌数が多いことが明らかとなつた。しかしこの事が、これらの部位に於ける BCG の増殖の結果と連断は出来ず。或は生存期間の延長、或は散布速度が早いのかも知れない。何れにせよ、抗原刺戟の増大となることには変りはないであろう。一方、内臓臓器の脾、肝及び肺では卵黄添加による生菌数の増加は見られなかつた。之は卵黄添加接種 BCG 量が小さすぎて対照との差が明らかとならなかつたのかも知れない。

以上の結果は卵黄添加 BCG が当初予想した程度、即ち前報に於ける毒力菌感染防禦効果から考えて 100 倍位に増加する程度には至らなかつたが、接種局所及び近接リンパ腺に於て確かに生菌数が多く見出される事を示している。この事が抗体産生に大きな働きをなし従つて免疫効果を大ならしめるものと考えられよう。即ち、皮下に接種された毒力菌は侵入部位の皮下、次いで近接リンパ腺に於て先の卵黄添加 BCG により充分に成立した免疫特に局所免疫によつて強く阻害を受けることになる。この点は、高橋²⁾の示したリンパ腺に直接 BCG を接種したモルモットの免疫効果が皮下接種の場合に勝る事実、又 Paraf³⁾⁴⁾の示す如く、脾、肺などに BCG 免疫を直接行い、再びこれらに毒力菌を感染する場合の方が他に感染部位を選ぶよりも強い感染防禦効果が見られることなどのある種の局所免疫の成立を考え更に又、抗体産生の場合

としてのリンパ節については異論がある⁵⁾にしてもリンパ節がその重要な働きを有することは一般に認められていることなど併せ考える一応説明されるように思われる。

果して、本実験に於ても BCG 接種後の「ツ」アレルギーの発現は卵黄添加群に強く見られ 100 倍量の接種群と差のない結果を示した。又、この際の毒力菌感染に対しては蒸溜水浮游接種群より遙かに強い防禦効果を示し、前報と同様に卵黄の免疫効果が確認されたわけである。

結 語

卵黄を BCG の Adjuvant としてモルモットの皮下に接種して、日を追つて体内の BCG の散布の状態を定量培養によつて知り得た。即ち肺、肝及び脾では Adjuvant なしの接種群との差は見られなかつたが、接種局所では接種 3 週以後、その近接リンパ腺では 3 週迄かなり生菌数が多く認められた。

一方、これらの BCG 免疫群の「ツ」アレルギー及び感染防禦効果を比較したところ、何れも卵黄添加 BCG 免疫群は Adjuvant なしの免疫群よりは遙かに強く、その 100 倍量の免疫群にも余り劣らなかつた。このことは上に示された如く、卵黄添加によつて BCG が接種局所及び近接リンパ腺に通常以上に増殖し、従つて十分な免疫が成立したためと説明されよう。

終りに、高橋教授の御指導と御校閲を深謝する。又病理組織学的検索に御教示をいただいた森川助教授に感謝する。

文 献

- 1) 山本健一・橋本徹二：結核の研究，第 4 集，昭和 31 年。
- 2) 高橋義郎：抗研誌，11，67，昭和 30 年。
- 3) J. Paraf: Compt. rend. Soc. biol., 115, 1512, 1934.
- 4) J. Paraf: Compt. rend Soc. biol., 115, 1513, 1934.
- 5) 天野重安：血液学の基礎，p. 632，1948 年，丸善（東京）。