STUDIES ON THE IMMUNITY BY BCG IN MURINE LEPROSY**Shinji NISHIMURA, Michiyuki KONO* and Masamichi KODAMA**

(Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University)

(Dept. of Dermatology, Osaka University Medical School)

Ken YANAGISAWA

(National Institute of Health, Tokyo)

Taiji NOJIMA, Mutsuo MORIYA, Takeyo TAKAHASHI**and Shinnosuke OSHIMA**

(National Leprosarium, Oshima Seishoen)

Masayasu ITO and Masakazu SUZUKI

(National Leprosarium, Nagashima Aiseien)

From January to September 1955, experiments were carried out to examine the possibility of preventing leprosy by means of BCG injection and murine leprosy was employed for a mean of this purpose.

The experiments were carried out in 3 series, namely, 1) prophylaxis, 2) inhibition of the onset and 3) therapy. And 140 rats were used in total.

I. Experiment of Prophylaxis

Experimental method:

Experimental animal: Young female rats, $70 \text{ g} \pm 10 \text{ g}$ in weight

BCG: Prepared at the National Institute of Health

Strain of Murine Leprosy Bacillus: The leproma of the Kumamoto strain passed through rats was extirpated and suspended in saline water. The concentrations used were 10^{-2} and 10^{-4} .

80 rats were divided into four groups of each 20 rats. BCG was injected, then after 3 months 0.5 cc of each murine leprosy bacillus suspension was, as a challenging manner, inoculated subcutaneously.

The size and the weight of the leproma were the standards of the judgement. Distribution of bacillus and pathological changes in the lymph nodes and visceral organs were helpful to the judgement.

Results: As presented in Tables 1 and 2, Figures 1 and 2 and Plate, the onset was inhibited most strongly in the group received 10 mg BCG intraperitoneally. The group which had received subcutaneous inoculation of 10^{-4} suspension showed pretty strong inhibition, while the inoculation of 10^{-2} suspension presented no difference from the control group.

From the above results, it was revealed that the preceding BCG injection prevented the onset of murine leprosy, and BCG was more effective when injected intraperitoneally than subcutaneously. And that the diluted suspension was more adequate than the concentrated.

II. Inhibition of the onset

Experimental method: Rat, BCG and murine bacillus suspension employed in this experiment were the same as those in experiment of prophylaxis. This time, 20 rats inoculated 0.5 cc of 10^{-2} suspension and other 20 0.5 cc of 10^{-4} suspension. The half number of each group received subcutaneous injection of 10 mg of BCG on the next day and observed. The standards of the judgement were the same as those described in the previous experiment.

Results: As in Tables 3 and 4, and figures 3 and 4, 10 rats inoculated 10^{-2} bacillary suspension presented no remarkable difference between the treated and the non-treated groups, while those in inoculated 10^{-4} suspension BCG injection produced a more intense inhibition. These

* the deceased

results revealed that BCG injection inhibited the onset of murine leprosy to some extent.

III. Therapeutic Experiment

20 rats which had already developed, 3 months after subcutaneous inoculation of murine leprosy bacillus, pea-sized or almond-sized leprom at the site were injected subcutaneously. 10 of the above 20 rats then received 10 mg of BCG 10 times in every week. In this treatment, BCG injection produced no noticeable difference between the treated and non-treated groups (Tab. 5). In short, BCG showed no therapeutic effect.

These three series of experiments presented conclusion that BCG injection is a useful method for the prophylaxis and the inhibition of the onset of murine leprosy.

BCG による鼠癩免疫の研究

西村 真二 故河野 通之 児玉 正道

大阪大学微生物病研究所癩研究部 大阪大学医学部皮膚科泌尿器科教室

柳 沢 謙

国立予防衛生研究所

野島 泰治 守屋 睦夫 高橋 竹代

大島 新之助

国立療養所大島青松園

伊東 正保 鈴木 正和

国立療養所長嶋愛生園

(昭和31年4月23日受稿)

Vaccin による癩の予防は、癩菌培養が成功した後に取上げらるべき課題として、これまで多くの人々はあまり関心を示さなかつた。然るにBCG接種によつてレブロン反応が陽転する事実を Fernandez²⁾ によつて見出されて以来、この研究はにわかに脚光を浴びるに至つた。即ちレブロン反応は、癩の病型決定に重要な指標としてその意義を認められているものであるが、一方この反応の陽性は、癩菌に対する生体抵抗力の現われであるとの考え方から、BCG接種による癩予防の問題が大きく浮び上つて来た。そして南アメリカ殊にブラジルではこの研究が旺んに行われ、既に同国々立 Leprosy Service では数年前から大規模な野外研究が実施されている程である。

鼠癩を対象とした BCG Vaccination の研究は、この問題の解決に幾分でも役立つであろうとして2・3の人達がこれを試みている。Azulay¹⁾ は、1952年 BCG のラット接種は、鼠癩発症をある程度抑制すると予報したのち引続いて行つた多数の実験成績も、確実にこのこ

とを証明したと報告している。然るにこれよりさき Muir & Henderson⁶⁾ は1927—28年彼等の鼠癩に関する綜説においてBCG接種が鼠癩の予防に効果なきことを述べ、1954年 Hadler & Zitti⁵⁾ も彼等の実験成績竝に病理組織学的見地から、BCG による鼠癩発症の抑制を否定している。1955年著者等のうち西村、河野等³⁾ は、マウス鼠癩においてBCG Vaccination が、発症を幾分抑制したと発表し、川口⁴⁾ は弱毒結核菌 (BCG) よりも強毒株 (H 37 RV) 感染マウスにおいて、より強く鼠癩発症を抑制したと述べている。

われわれは、鼠癩実験の成果をそのまま癩へ援用し得るや否やは別としても、現在BCGによる癩感染予防の実験的な研究手段としては、これを鼠癩に求めるはかないので、ここに本実験を企てた次第である。

実験材料竝に方法

この実験を感染予防 (Vaccination したラットを鼠癩菌で攻撃する)、発症阻止 (鼠癩菌を接種した後から

Vaccination を行う), 治療 (鼠癩菌接種3ヵ月後癰腫の発症せるものを対象に治療), の3つに大別し,

ラットは, 静岡県産, 雑系, 70g ± 10g, ♀を用い,

BCG は, 国立予衛衛生研究所の液状ワクチン (製造後3日) を背部皮下及び腹腔内へ接種した。

鼠癩菌は, 熊本株ラット継代後3ヵ月の新鮮な癰腫を摘出磨碎, 生理的食塩水にて 10^{-2} 乳剤とし, これを4層のガーゼにて濾過, 更に 10^{-4} 稀釈液を作り, 接種は各菌液とも0.5ccずつ総て下腹部皮下へ行つた。接種菌液中の菌数は次の通りであつた。

10^{-2} 液 0.5cc に 1840 万個, 10^{-4} 液 0.5cc に 18.4 万個。

実験方法は, 次の様に行つた。

1) 感染予防 (ラット80匹)

1955年1月30日, BCG を下記の如くラットへ注射した後, 3ヵ月後に鼠癩菌を以て攻撃し, 5ヵ月間発症経過を観察後解剖した。

ラット	B C G		攻 撃 菌		観察期間
	接種部 mg	免疫期間	稀釈液 cc		
10	皮下10.0	3ヵ月	10^{-2} 0.5		5ヵ月
10	〃 〃	〃	10^{-4} 〃	〃	〃
10	〃 1.0	〃	10^{-2} 〃	〃	〃
10	〃 〃	〃	10^{-4} 〃	〃	〃
10	腹腔10.0	〃	10^{-2} 〃	〃	〃
10	〃 〃	〃	10^{-4} 〃	〃	〃
10	無処置	〃	10^{-2} 〃	〃	〃
10	対 照	〃	10^{-4} 〃	〃	〃

2) 発症阻止 (ラット40匹)

1955年1月29日, 鼠癩菌を下記の様にラットへ接種しその翌日BCGを注射, 5ヵ月間発症程度を観察した後解剖した。

ラット	攻撃菌		B C G		観察殺
	稀釈液 cc		注射 mg		
10	10^{-2} 0.5	翌日	腹腔 10		5ヵ月
10	10^{-4} 〃	〃	〃 〃	〃	〃
10	10^{-2} 〃		無処置対照		〃
10	10^{-4} 〃		〃		〃

3) 治療 (ラット20匹)

1955年1月29日, ラット10匹に鼠癩菌 10^3 稀釈液 0.5cc を下腹部皮下へ接種し, 3ヵ月後局所に癰腫の発生したものに對し, BCG を毎週1回10mgずつ背部へ10回注射した。対照群10匹は無処置のままとした。

成績判定法は, 鼠癩菌接種部における癰腫の拡がりに重点をおいて, 其の経過を1ヵ月毎に観察し, 5ヵ月後にこれを剖検して, その重量, リンパ節及び臓器における菌分布, 竝に臓器の病変を参考にして, 下記の方法で判定を行つた。

癰腫判定標準

皮下接種局所に生じた Leproma をゲージによつて拡がりを測定したのちメスを以て丁寧に摘出, 脂肪組織, 血液成分などを除いて評量し拡がりは下記の標準によつて判定評価した。

癰腫の拡がり	触 診	記 号	指数
1 ~ 30 m.m.	痕跡 ~ 半米粒大	+	0.5
31 ~ 70	米粒大	+	1.0
71 ~ 150	小豆大	++	2.0
151 ~ 300	小指頭大	+++	3.0

菌分布度の判定標準

リンパ節及び臓器断面をスタンプし, チールネルセン染色を施した標本の鏡検成績を, 下記の標準に従い判定評価した。

全視野の含菌細胞数	記 号	指 数
孤立菌のみ少数	+	1
1 ~ 10	+	2
11 ~ 50	++	3
51 ~ 100	+++	4
101 以上	∞	5

実 験 成 績

1 感染予防成績

a) 癰腫の発生経過 (Table 1. Fig 1. 参照)

無処置対照群: 10^{-2} 菌乳剤接種組では30日後から既に浸潤又は小結節を生じ, 日の経つにつれて癰腫増大, 150日では平均指数2.0を示した。同じく 10^{-4} 菌乳剤接種組では60日後から浸潤, 結節を生じ, 其の後比較的急速に増大して150日では平均指数1.6であつた。

BCG 1mg 皮下注射群: 10^{-2} 菌乳剤による攻撃組では, 一見して発症がややおくれたようであつたが, 逐次増大し150日では平均指数1.9を示し, 対照群のそれと殆んど差が見られなかつた。 10^{-2} 菌乳剤攻撃組では60日目から浸潤を認めたが, その程度は対照群よりも軽く, 150日では平均指数1.06でかなり抑制された。

BCG 10mg 皮下注射群: 10^{-2} 菌乳剤による攻撃組では, 対照に比し発症がややおくれたが, 其の後速かに増大150日では平均指数2.3を示し, 対照群よりも却つて大であつた。 10^{-4} 菌乳剤攻撃組では, 対照に比して発

鼠がかなり強く抑制され150日目の平均指数は0.68であった。

BCG 10 mg 腹腔注射群: 10^{-2} 菌乳剤攻撃組では、対照に比し発症時期もはるかにおくれ、60日目に約半数において漸く浸潤を触れたが、其の後の癰腫は増大を見

ず、かつ発症動物数も増加せず150日においては却つて浸潤の消褪したものがあつて、平均指数0.28と云う甚だ低いものであつた。 10^{-4} 菌乳剤攻撃組では、これ亦強く抑制され150日目の癰腫平均指数0.17と云う全実験中の最低値を示した。

Table 1. The Progress of the Growth of Leproma in Prophylaxis Experiment

Challenge	Days	10^{-2} suspension 0.5 cc						10^{-4} suspension 0.5 cc					
		No.	30	60	90	120	150	No.	30	60	90	120	150
Unvaccinated Control		101	+	+	+	++	+++	111	—	+	+	+	+
		102	+	+	+	+	+	112	—	+	++	++	++
		103	+	+	+	++	+++	113	—	+	+	++	++
		104	+	+	+	+	+	114	—	++	++	++	++
		105	++	++	++	+++	+++	115	—	+	++	++	+++
		106	+	+	+	++	+	116	—	+	+	++	+
		107	+	++	+	++	+++	117	—	+	+	++	++
								118	—	+	—	+	+
1 mg injected Subcutaneously		81	—	+	+	++	+++	91	—	+	+	+	++
		82	—	+	++	++	+++	92	—	+	+	+	+
		83	+	++	++	+++	+++	93	—	+	+	+	+
		84	+	+	+	+	—	94	—	+	+	+	+
		85	+	+	+	+	+	95	—	+	+	+	+
		86	+	+	+	+	+	96	—	+	+	+	+
		87	—	++	+	++	++	97	—	+	+	+	+
		88	+	+	+	+	+	98	—	+	—	+	+
10 mg injected Subcutaneously		61	+	+	+	++	+++	71	—	—	—	—	—
		62	—	+	+	+	+	72	—	+	+	+	+
		63	+	+	++	++	++	73	—	+	+	+	++
		64	+	++	++	+++	+++	74	—	+	+	+	++
		65	—	+	++	+++	+++	75	—	+	+	+	+
		66	+	+	+	+	+	76	—	+	—	+	+
								77	—	+	+	+	+
								78	—	—	—	—	+
10 mg injected Intraperitoneally		121	—	+	+	+	+	131	—	+	+	+	+
		122	—	—	—	—	—	132	—	—	—	—	—
		123	—	+	+	+	++	133	—	—	—	—	—
		124	—	—	—	+	—	134	—	+	+	+	+
		125	—	+	—	—	—	135	—	—	—	—	—
		126	—	+	+	+	—	136	—	+	+	+	+
		127	—	—	—	—	—	137	—	—	—	—	—
		128	—	+	+	+	+	138	—	+	+	+	—
		129	+	+	+	+	—	139	—	—	+	+	—

Table 2 The weight of *Leproma* and Distribution
of Bacilli in Prophylaxis Experiment

Challenge		10 ⁻² suspension 0.5 cc							10 ⁻⁴ suspension 0.5 cc						
B C G	Leproma & Distribution of Bacilli	No.	Weight of Leproma	Inguinal	Axillar	Submandibular	Liver	Spleen	No.	Weight of Leproma	Inguinal	Axillar	Submandibular	Liver	Spleen
Unvaccinated control		101	0.72	++	+	-	-	-	111	0.15	+	+	-	-	-
		102	0.29	+	+	-	-	-	112	0.41	+	++	-	-	-
		103	0.4	+	++	-	-	-	113	0.31	+	+	-	-	-
		104	0.09	+	+	-	-	-	114	0.2	+	+	-	-	-
		105	0.57	++	+	-	-	+	115	0.65	++	+	-	-	-
		106	0.12	+	+	-	-	-	116	0.2	+	+	-	-	-
		107	0.9	++	+	-	+	+	117	0.53	++	+	-	-	-
									118	0.2	+	+	-	-	-
1 mg Injected Subcutaneously		81	0.6	+	+	+	-	+	91	0.35	+	+	-	-	-
		82	1.1	++	+	-	-	-	92	0.25	+	+	-	-	-
		83	0.7	+	+	-	-	-	93	0.2	+	-	-	-	-
		84	—	+	+	-	-	-	94	0.09	+	-	-	-	-
		85	0.2	+	-	-	-	-	95	0.35	++	+	-	-	-
		86	0.2	+	+	-	-	-	96	0.17	+	-	-	-	-
		87	0.4	+	+	-	-	-	97	0.1	+	-	-	-	-
		88	0.25	++	+	-	-	-	98	0.14	+	+	-	-	-
10 mg injected Subcutaneously		61	0.81	++	+	-	-	-	71	—	+	-	-	-	-
		62	0.31	+	+	-	-	-	72	0.15	+	+	-	-	-
		63	0.25	+	+	-	-	-	73	0.4	+	+	-	-	-
		64	0.7	+	+	-	-	-	74	0.3	+	-	-	-	-
		65	0.72	+	+	-	-	+	75	0.1	+	-	-	-	-
		66	0.2	+	-	-	-	-	76	0.1	+	-	-	-	-
									77	0.05	++	+	-	-	-
									78	—	+	-	-	-	-
10 mg injected Intraperitoneally		121	0.05	+	+	-	-	-	131	0.03	-	-	-	-	-
		122	—	+	+	-	-	-	132	—	+	-	-	-	-
		123	0.45	++	+	-	-	-	133	—	+	+	-	-	-
		124	—	+	+	-	-	-	134	0.03	++	+	-	-	-
		125	—	+	+	-	-	-	135	—	+	+	-	-	-
		126	—	+	-	-	-	-	136	0.13	-	-	-	-	-
		127	—	+	+	-	-	-	137	—	+	-	-	-	-
		128	0.03	+	+	-	-	-	138	—	+	+	-	-	-
		129	—	+	+	-	-	-	139	—	+	+	-	-	-

Fig 1 は、各群別の発症経過の平均指数をヒストグラムに表わしたもので、これによつて B C G 各群を比較すると、皮下注射法よりも腹腔内法が有効に作用せることが一目瞭然であつて、B C G 注射量では 1 mg と 10 mg との間に著しい差を見ない。又攻撃菌量の側から見ると、濃厚菌液 (10^{-2}) よりも、稀薄菌液 (10^{-4}) による攻撃組において、B C G の抑制が一層明確に観察できた。

b) 癰腫重量と菌分布 (Table 2, Fig 2, Plate 参照)

無処置対照群: 10^{-2} 菌乳剤攻撃組では、癰腫平均重量 0.42g, 菌は全例の鼠蹊腺、腋窩腺に Globi 状をなして + ~ ++ 程度認めたが、顎下腺にはこれを見ず、臓器では肝 1 例、脾 2 例に Globi にまで発展していない + 程度の菌を見出した。 10^{-4} 攻撃組では癰腫平均 0.33 g, 全例の鼠蹊腺、腋窩腺に + ~ ++ 程度の菌を認めたが、顎下腺、肝、脾には菌を見出さなかつた。

B. C. G. 1 mg 皮下注射群: 10^{-2} 菌乳剤攻撃組では癰

腫平均重量 0.43 g, 菌は全例の鼠蹊腺に + ~ ++ 程度見られたが、腋窩腺では 6 例、顎下腺は 1 例にのみ発見、臓器では脾の 1 例に少数を認めた。 10^{-4} 攻撃組では癰腫重量 0.21 g, 菌は鼠蹊腺の全例に証明できたが、腋窩腺は 4 例のみ少数に発見、他は見出さなかつた。

B C G 10 mg 皮下注射群: 10^{-4} 菌乳剤攻撃組では癰腫重量 0.14 g, 菌分布は鼠蹊腺の全例、腋窩腺の 3 例にこれを認めたが、他は見出せなかつた。

B C G 10 mg 腹腔内注射群: 10^{-2} 菌乳剤攻撃組では、癰腫を摘出し得たもの僅かに 3 例、他は痕跡或は全くこれを認めなかつたものである。その重量平均 0.6 g であつた。

菌は鼠蹊腺の全例に認めたが、Globi を証したもの 5 例で、他は細胞内にあつても極少数であつた。腋窩腺も亦 1 例を除き全部菌を認めたが、その大部分は極く少数であつた。他の淋巴腺臓器には菌を見出せなかつた。 10^{-4} 攻撃組では癰腫を摘出し得たもの 3 例、平均して

Table 3 The Progress of the Growth of Leproma in Experiment of Inhibition

Inoculation	Days	10^{-2} suspension 0.5 cc						10^{-4} suspension 0.5 cc					
		No.	30	60	90	120	150	No.	30	60	90	120	150
Unvaccinated Control		21	+	++	+++	+++	+++	31	-	++	+++	+++	+++
		22	+	+	+	+	++	32	-	-	+	++	+++
		23	-	+	+	+	+	33	-	+	++	+++	+++
		24	+	++	+++	+++	+++	34	-	+	++	++	++
		25	+	++	++	+++	+++	35	-	++	+++	+++	+++
		26	+	+	+	+	++	36	-	+	++	++	++
		27	+	++	++	++	++	37	-	+	+	+	+
		28	+	++	++	++	++						
		29	+	++	++	++	++						
		30	+	++	++	++	++						
10 mg injected Subcutaneously		1	+	++	++	++	++	11	-	+	+	++	++
		2	+	++	+++	+++	+++	12	-	+	+	++	++
		3	+	++	+++	+++	+++	13	-	-	-	+	+
		4	+	++	+++	+++	+++	14	-	+	+	++	++
		5	+	++	+++	+++	+++	15	-	+	+	++	++
		6	+	++	+++	+++	+++	16	-	-	+	+	+
		7	+	++	+++	+++	+++	17	-	+	+	++	++

0.01 g, 菌は鼠蹊腺に証明したもの7例, 腋窩腺5例で貪喰菌数の少い例が多かった。

Fig 2 は以上の癰腫平均重量, 菌分布を各群毎に比較したものであつて, 重量はさきの発症経過と概ね一致した成績を示し, 菌分布では一般に B C G 注射群は対照群よりも軽く, 1 mg 皮下群と, 10 mg 皮下群の間には大差ないが, 腹腔内注射では皮下注射よりも一層低く対照群との間にはかなり強い抑制が認められた。

2 発症阻止成績

a) 癰腫の発生経過 (Table 3 参照)

無処置対照群: 10^{-2} 菌乳剤接種組では, 30 日で1例を除き全部に浸潤又は結節を生じ, 日数の経過と共に増

大150日では平均指数2.6にまで発展した。一方 10^{-4} 接種組では, 30日で発症したものは1例も無かつたが, 45~60日で全部発症, のち急速に増大して150日では平均指数2.3に達した。

B C G 10 mg 皮下注射群: 10^{-2} 菌乳剤接種組では30日で全例に発症, 以後各例とも逐次増大し, 150日では平均指数2.9を示し, 対照群に比し全く抑制が見られない。 10^{-4} 接種組では30日で発症したものがなく, 60日で漸く5例に浸潤を認め, 150日ではその多くが小結節に増大, 平均指数1.4, これは対照群に較べてかなり強く抑制された。

Fig 3 は上記各群の発症経過平均指数を表わしたもの

Table 4. The Weight of Leproma and Distribution of Bacilli in Experiment of Inhibition

Inoculation Leproma & Distribution of Bacilli B C G	10^{-2} suspension 0.5 cc							10^{-4} suspension 0.5 cc						
	No.	Weight of Leproma	Inguinal	Axillar	Submandibular	Liver	Spleen	No.	Weight of Leproma	Inguinal	Axillar	Submandibular	Liver	Spleen
Unvaccinated Control	21	1.1	++	++	-	-	+	31	1.0	+	+	-	-	-
	22	0.5	++	+	-	-	-	32	1.6	++	+	-	-	-
	23	0.3	++	+	-	-	-	33	1.6	+	+	-	-	-
	24	1.4	++	++	+	+	-	34	0.4	+	+	-	-	-
	25	0.4	+	+	-	-	-	35	1.0	+	+	-	-	-
	26	0.8	++	+	-	-	-	36	0.2	+	+	-	-	-
	27	0.7	++	+	-	-	+	37	0.1	+	+	-	-	-
	28	0.7	+	+	-	-	-							
	29	0.3	+	++	-	-	-							
	30	1.1	++	++	+	+	+							
10 mg injected Subcutaneously	1	0.4	++	++	-	-	-	11	0.4	+	+	-	-	-
	2	0.7	++	++	-	-	+	12	0.3	+	+	-	-	-
	3	1.2	+	++	-	-	+	13	0.2	+	+	-	-	-
	4	1.2	+	+	-	-	-	14	0.4	+	+	-	-	-
	5	0.7	++	++	-	-	-	15	0.3	+	+	-	-	-
	6	0.9	++	+	-	-	-	16	0.1	+	-	-	-	-
	7	1.6	++	+	-	+	+	17	0.2	+	-	-	-	-

である。

b) 癰腫重量と菌分布 (Table 4 参照)

無処置対照群: 10^{-2} 菌乳剤接種組では、癰腫重量平均 0.73 g, 菌は鼠蹊腺, 腋窩腺に Globi を形成して+~++程度見られ、顎下腺は2例, 肝2例, 脾3例にいずれも少数の菌を認めた。 10^{-4} 接種群では、癰腫重量平均0.48 g, 菌は鼠蹊腺, 腋窩腺に証明したが、他の淋巴腺及び臓器には見なかつた。

BCG 10 mg 皮下注射群: 10^{-2} 菌液注射群では癰腫重量平均 0.96 g で、対照群よりも却つて大きく、菌分布では対照と殆んど同程度に証明したので、抑制的効果は殆んど見られなかつた。 10^{-4} 接種群では癰腫重量平均 0.27 g, 対照群に比しかなり強く抑制され、菌は大部分

の鼠蹊腺, 腋窩腺に証明できたが、その菌数は甚だ少く対照に比較して顕著ではないが僅かに差が見られた。

Fig 4 は上記各群の癰腫重量平均並に菌分布指数を表わしたものである。

3 治療成績

Table 5 に示した如く、対照群も BCG 治療群も45日頃より発症、90日では共に平均指数 1.8 の同値を示したものであるが、以後 BCG を1週1回 10 mg ずつ 10回注射したものでは、これによる影響は全く見受けられず、150日で対照群平均指数 2.7, 注射群 2.1でその間に著しい差を見ず、治療の効果を示したものが1例もなかつた。

Table 5. The Progress of the Growth of Leproma in Therapeutic Experiment

Untreated Control									BCG 10 mg 10 times Injected								
No.	45	60	75	90	105	120	135	150	No.	45	60	75	90	105	120	135	150
51	—	+	+	++	++	+++	+++	+++	41	+	++	++	++	++	++	++	++
52	—	+	+	+	++	+++	+++	+++	42	+	+	+	+	+	+	+	+
53	+	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	43	+	++	++	++	++	++	++	++
54	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	44	+	+	++	++	++	++	++	++
55	—	+	+	++	++	++	++	++	45	+	+	+	+	++	++	+++	+++
56	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	46	+	+	+	+	+	+	++	++
57	+	+	+	+	++	++	++	++	47	+	++	+++	↑	++	++	+++	+++
58	+	++	++	++	++	+++	+++	+++	Start of injection								
59	+	++	++	++	++	+++	+++	+++									

総 括

国立予防衛生研究所にて作られた液状 BCG Vaccin, 鼠蹊菌熊本株 (ラット継代 10^{-2} ~ 10^{-4} Suspension), 70~80 g 雑系ラット 140 匹を材料とし、判定法には皮下接種局所の癰腫発生経過と、その重量に主眼を置き、菌分布を参考として行つた感染予防、発症阻止、治療の3つの実験成績は次のようであつた。

1) 感染予防法として、ラットに BCG を注射してから3ヵ月後に鼠蹊菌を接種するとその発症が抑制される。この場合 B. C. G. 腹腔内注射が最も効果大で、皮下注射は効果が薄い。又注射量 1 mg と 10 mg との間には効果は大差がない。攻撃菌量では、 10^{-2} よりも 10^{-4}

菌乳剤を接種した場合に抑制作用を一層明瞭に認めた。

2) 発症阻止法として、鼠蹊菌を接種した翌日 BCG を皮下注射すると、発症が幾分抑制される。この場合も接種菌は乳剤において効果が明かであつた。

3) 治療的に BCG を用いても効果がなかつた。

討 論

はじめに述べた如く、鼠蹊を対象とした BCG 免疫に関する報告はいまだ五指を屈するに足りない、にも係らずその成績は必ずしも一定でない。BCG 免疫の研究が最も熱心に行われているブラジルに於いても、Azulay¹⁾ は之を肯定した成績を示し、Hadler 等⁵⁾ はこれに反した結果を報じている。そしてわれわれが上に述べた成績

は、その可能性を支持するものである。

この様に成績のくい違いが生じた最も大きい理由とし

て先づ考えられることは、実験方法の相違である。試みに3者の実験方法を次表について比較するに、

実験法	Hadler & Zitti ³⁾	Azulay ¹⁾	西村, 柳沢, 野島等
BCG投与法と菌量	経口: 5 mg 5回=25 mg 〃 5 mg 1回= 5 mg 筋肉: 5 mg 1回= 5 mg 非予防注射対照群	皮下: 20 mg 1回 腹腔: 20 mg 1回 非予防注射対照群	皮下: 1 mg 1回 〃 10 mg 1回 腹腔: 10 mg 1回 非予防注射対照群
動物数	50 匹	77 匹	80 匹
免疫期間	90 日	115 日	90 日
攻撃菌	腹腔内へ 0.03 mg 2回	皮下へ Rich Suspension 0.5 cc	皮下へ 10^{-2} 0.5 cc 10^{-4} 0.5 cc
判定法	内臓病変の程度並に組織変化	解剖による局所病変と菌分布	局所 Leproma 発生経過と重量並に菌分布
結果	対照に比し差なし	局所の病変には差あり 菌分布には大差なし	Leproma の発生に顕著な差あり、菌分布には僅に差あるのみ

BCG 投与方法、及び攻撃菌量とその接種部位並に判定方法に重要な違いが見出される。先ず接種部位であるがわれらの成績にも表われたように、BCG 皮下注射よりも、腹腔内注射がより効果的であつたことから見て、Hadler 等の用いた経口投与又は筋肉内注射法が、果して腹腔内注射と同様に有効であるかどうか、疑問といわざるを得ない。次に攻撃菌量について、Azulay は濃厚乳剤 (Rich Suspension) を皮下に、Hadler は 0.03 mg を腹腔に注射している (この 0.03 mg は、文献²⁾ によるわれ等の計算では 10^{-2} 乳剤 0.3~0.5 cc に相当した)。

このような濃厚乳剤接種では、僅少な抑制力を判定することが至難であることは、既にわれわれが BCG 皮下接種群に対する 10^{-2} と、 10^{-4} 乳剤接種成績で知らされたところである。又 Azulay 及びわれわれは主として皮下接種法による癩腫の発生と、菌分布によつて判定を行っているが、Hadler は腹腔接種によつて臓器病変の肉眼的並に組織学的所見で判定を試みている。このような臓器における肉眼的病変を、一定の尺度によつて評価することは甚だむづかしいことであり、又 BCG 注射群と非注射群における病像の特徴を組織学的に把えることもこれまた至難なことと考えられ、寧ろ皮下局所における癩腫の発生を、一定の規準に照して評価することが、最も合理的であると私どもは考える。

Hadler 等が鼠癩の BCG 免疫を否定する理由は、単に彼等がラットについて行つた免疫実験で、好ましい結

果が得られなかつたというだけではなく、彼等がそれより以前に行つたモルモットとラットへ鼠癩菌を接種した場合の比較研究⁴⁾ など BCG 免疫に関する一連の実験成績から、モルモットでは BCG 注射によつて Lepromin 反応陽転と共に Macrophagen の菌溶解作用を亢進するが、ラトではこれがない。即ちラットの Macrophagen の菌貪喰能は、モルモットのそれよりも強いが、先天的に溶菌作用を示さず、又 BCG 注射によつてこの作用を高めることが出来ないと云う事実に根拠をおけるものである。果して鼠癩免疫力の本態を、Macrophagen のみと考えてよいであろうか、これは今後の研究に俟つとしても、われらの実験方法によつて、局所の Leproma の発生が明かに抑制された事実は、これを免疫現象と云う言葉を以つて説明して、一向さしつかえないように思う。即ちわれわれは、Hadler と異つた方法、そして Azulay の方法よりも一層少量の鼠癩菌を以つて攻撃することによつて、より明確に抑制作用を認めることができたのである。

結 論

ラットに BCG を皮下又は腹腔内注射して一定期間後に鼠癩菌を以て攻撃した場合、発症が抑制される。この事実によつて、BCG による鼠癩免疫は可能であると結論したい。

この実験は愛生園光田健輔園長の助言によつて野島、柳沢、西村等が計

画をたて、次のような分担によつて実施された。BCGの製造とラットへの注射は柳沢が、鼠癩菌接種と成績の判定は西村等が担当し、動物の飼育管理その他実験の一切は大島青松園野島園長のもとにおいて各医官の協力によつて行われたものである。文献^{3) 4) 5)} Hadlerの報告は、阪大志水助教授の邦訳に負うものである。

終りにこの研究に対し援助を与えられた藤風協会に対し謝意を表する。

文 献

- 1) Azulay, R. D.: The Protective Role of B. C. G. in Murine Leprosy, *Internat. J. Leprosy* **22** 61, (1954)
- 2) Fernandez, J. M. M. Estudio comparativo de la reaccion de Mitsuda con la reacciones tuberculinicas. (Comparative study of the Mitsuda and tuberculin reactions) *Rev. Argentina Dermatosisifl.* **23** 425-453, (1939). *Abs.-Internat. J. Leprosy* **8** 133, (1940)
- 3) Hadler, W. A., Zitti, L. M.: Estudo da sensibilidade tuberculínica em cobaios normais inoculados experimentalmente com *M. leprae*, *M. lepraemurium* e *M. tuberculosis*, *Revista Brasileira de Leprologia*

21 341, (1953)

- 4) Hadler, W. A.: Comportamento do cobaio e do rato, normais, injetado com "lepromina" por via intradérmica, *Revista Brasileira de Leprologia* Vol.

21 165 (1953)

- 5) Hadler, W. A., Zitti, L. M.: Efeito da vacinação pelo BCG sobre a evolução da lepra murina: observação em ratos inoculados, por via peritoneal, com pequena dose de "*mycobacterium lepra murium*," *Revista Brasileira de Leprologia* **22** 124, (1954)

- 6) 川口陽一郎: 癩と結核の免疫学的関連性について 第一編 結核感染の鼠癩発症に及ぼす影響 レブラ **24** 64 (昭和30年)

- 7) Muir, E. and J. M. Hendersson: Rat leprosy *Indian J. M. Research* **15** 807 (1927-28)

- 8) 西村, 河野, 児玉: 癩と鼠癩の免疫に関する研究 (2報) レブラ **24** 427 (昭和30年) 学会抄録

Fig. 1. The Average Value of the Growth of Leproma in Each Group of Prophylaxis Experiment

Fig. 2. The Average Value of the Weight of Leproma and Distribution in Each Group of Prophylaxis Experiment

Fig. 3. The Average Value of the Growth of Leproma in Each Group of Inhibition Experiment

Fig. 4. The Average Value of the Weight of Leproma and Bacillus Distribution in Experiment of Inhibition

PLATE I

The Leproma Developed in Prophylaxis Experiment
(Challenge Bacilli 10^{-2} Suspension)

1. Unvaccinated Control

2. BCG 1mg Subcutaneously Injected

3. BCG 10mg Subcutaneously Injected

4. BCG 10mg Intraperitoneally Injected

PLATE II

The Leproma Developed in Prophylaxis Experiment
(Challenge Bacilli 10^{-4} Suspension)

5. Unvaccinated Control

6. BCG 1mg Subcutaneously Injected

7. BCG 10mg Subcutaneously Injected

8. BCG 10mg Intraperitoneally Injected