Relationship between *M. leprae* and BCG on the Skin Reaction (1st Report)

Results on the skin reactions in sensitized guinea pigs

MICHIAKI MAEDA AND KAZUNARI NAKAMURA

(National Institute for Leprosy Research)

Relationship between the tuberculin reaction and the reaction to Dharmendra's antigen have been investigated in peoples contained all population, and it was recognized that these relation of both reactions were different each other in the examined towns or villages. Therefore, the relationship between *M. leprae* and *M. tuberculosis* or BCG related to tuberculin reaction was studied on the skin test in experimental animals.

The reaction to Dharmendra's antigen was compared with the reaction to old tuberculin or PPD-s prepared from *M. tuberculosis hominis* and the reaction to Mitsuda's antigen was compared with the reaction to the heat-killed tubercle bacilli suspension with tissue prepared from healthy persons in guinea pigs sensitized by the heat-killed tubercle bacilli or BCG with adjuvant.

The averaged sizes of reactions to old tuberculin, PPD-s or the heat-killed tubercle bacilli suspension with tissue were about equal each other in both sensitized guinea pigs, but the averaged sizes of reactions to Dharmendra's or Mitsuda's antigens in BCG-sensitized animals were larger than the sizes of both reactions in animals sensitized by tubercle bacilli. From these results, it seems that the common antigen contained in *M. leprae* and BCG is more than that contained in *M. leprae* and *M. tuberculosis*.

The size of reaction to Mitsuda's antigen and the heat-killed mycobacteria suspension with tissue in healthy or sensitized guinea pigs were investigated for four weeks after the injection of antigen. The largest size of reaction was seen at 24 hrs. after the injection of antigen and the size of reaction at 5~28 days was smaller than that at 1~3 days after the injection of antigen. Therefore, the phenomenon of "preexistence hypersensitivity" explained by Wade was not observed in these animal experiments.

皮内反応からみたらい菌とBCGとの関連性

第1報 感作モルモットにおける反応

前 田 道 明・中 村 一 成

(国立多摩研究所)

(受付 1965 年 9 月 11 日)

さきに柳沢らは、人型結核菌或は BCG による感作モルモットにおいては、ツベルクリン反応（ツ反応と略す）が陽性を示すとレプロミン反応（レ反応と略す）も陽性を示してくることを知り、健康者についてツ反応とダルメンドラ抗原による反応（D反応と略す）とを試みたところ、らい患者の場合と異り両反応は高い相関にあることを報告した¹⁾。同じ頃から数カ所の町村住民についてツ反応とD反応との関連性について調査を続けていたが、一部の地域の住民では両反応の相関がかなり低いことを知った。この両反応の相関における地域差の起る原因を種々の角度から追究したところ、BCG接種の既往がかなり大きな役割を占めているように思われた²⁾。従って人型結核菌とBCGとによる感作動物についてツ反応とD反応との関係を検討した。

実験方法および成績

実 験 I

方法：Römer 反応陰性の白色モルモット（体重平均 350g）30匹を2群にわけ、1群には人型結核菌青山B株の死菌 0.2mgを、他の1群にはBCG死菌 0.2mgを、流動パラフィンを Adjuvant として左下肢筋肉内に注射した。感作後8週目には人型結核菌由来の2000倍旧ツベルクリンとD抗原とにより、感作後11および18週目には人型菌由来の精製ツ PPD-s 0.15 γ と D 抗原とによって皮内反応試験を行い、抗原注射後24および48時間に判定を行った。

成績：感作後8、11および18週目における各抗原による反応の平均硬結値は、表1に示す如くである。いずれ

Table 1. The averaged size (mm) of induration of the skin reaction in two groups of the sensitized guinea pigs (Experiment I)

Test-time (Weeks after sensitization)	Sensitized animal-group	Reading at 24 hrs.		Reading at 48 hrs.	
		Tuberculin Dharmendra		Tuberculin Dharmendra	
8 weeks	Tubercle bacilli	9.6	11.0	6.3	7.8
	B C G	9.6	15.1	6.2	10.6
11 weeks	Tubercle bacilli	13.7	15.0	10.8	10.4
	B C G	13.2	17.0	10.2	10.9
18 weeks	Tubercle bacilli	14.6	16.2	9.7	9.9
	B C G	14.6	17.9	11.1	12.3

Note : The old tuberculin (1 : 2,000) was used at 8 weeks and PPD-s in the concentration of 0.15 γ per 0.1ml at 11 or 18 weeks.

の検査時においても、また24時間値のみでなく48時間値においても、両感作動物群におけるツ反応の大きさがほぼ等しい場合には、D反応の大きさは常に人型結核菌感作動物群よりもBCG感作動物群の方が大きかった。

実 験 II

方法：Römer 反応陰性の白色モルモット（体重平均 150g）40匹を2群にわけ、1群には人型結核菌青山B株

の死菌 1mg を、他の 1 群には BCG 死菌 1mg を、流動パラフィン を Adjuvant として左下肢筋肉内に注射した。感作後 5 週目には人型菌由来の精製ツ PPD-s 0.15 γ と D 抗原とにより皮内反応を行った。また感作後 9 週目にはレ反応検査に D 抗原の外に光田抗原をも用い、またツ反応の代りに健康人皮膚組織乳剤に人型結核菌を 0.01mg/ml の割合に加え加熱殺菌したもの（組織乳剤加人型結核死菌浮遊液）と、BCG を同量加えて加熱殺

菌したもの（組織乳剤加BCG死菌浮遊液）とを用いた。使用した健康人皮膚組織乳剤は、さきに組織乳剤による非特異反応を検査したときに用いたもの³⁾と同一のもので、健康人皮膚を光田抗原作成時と同様に Wade の変法⁴⁾に従って処理したものである。これら 4 抗原による皮内反応成績は、抗原注射後 1, 2, 5, 7, 10, 14 日目にそれぞれ判定した。

成績：感作後 5 週目におけるツ反応と D 反応との関係

Table 2. The averaged size (mm) of induration of the skin reaction at 5 weeks in both sensitized guinea pigs (Experiment II)

Sensitized animal-group	Reading at 24 hrs.		Reading at 48 hrs	
	Tuberculin	Dharmendra	Tuberculin	Dharmendra
Tubercle bacilli	14.9	10.0	9.8	6.7
B C G	15.6	12.3	10.6	7.2

Note : PPD-s was used for the tuberculin test.

Fig. 1. The size of reaction at 1~14 days in healthy and sensitized guinea pigs

は、表 2 に示す如くである。実験 I にみられた成績の如く、ツ反応の大きさに比し、D 反応では明らかに人型結

Fig. 2. The size of reaction at 1~14 days in healthy and sensitized guinea pigs

核菌感作動物よりも BCG 感作動物の方が大きい反応値を示していた。

次に、感作後 9 週目における各抗原による反応の硬結

値の時間的推移を両感作動物間で比較すると、図1, 2の如くである。組織乳剤加 BCG 死菌浮遊液による反応では、全般的にみて人型結核菌感作群よりも BCG 感作群の方が大きい反応性を示している。この事実は組織乳剤加 BCG 死菌浮遊液の BCG に対する型特異性を示すものである。しかし、組織乳剤加人型結核死菌浮遊液による反応では両感作動物間に反応値の差は認められな

ったが、光田抗原およびD抗原による反応では、いずれも BCG 感作動物における反応値が人型結核菌感作動物における反応値よりも大きかった。すなわち、表3に示すように、死菌浮遊液による反応においても、ツベルクリンによる反応の場合と同様に、BCG 感作動物においては人型結核菌感作動物におけるよりも大きい反応値を示していた。

Table. 3 The averaged size (mm) of the skin reaction at 9 weeks in both sensitized guinea pigs (Experiment II)

Reading	Sensitized animal group	Killed tubercle bacilli suspension with tissue	Mitsuda	Dharmendra
24 hrs.	Tubercle bacilli	16.10	13.95	13.63
	B C G	16.10	15.38	16.45
48 hrs.	Tubercle bacilli	11.85	9.65	9.15
	B C G	11.83	11.05	11.10

各抗原による反応値の時間的推移をみると、図1, 2の如く、いずれの感作動物でも抗原注射後24時間目に最高値を示し、48時間目には急に減弱し、5日目以後は反応値の減弱程度が極めて弱く、14日目でも組織乳剤加人型結核菌或はBCGの死菌浮遊液による反応では10~12mm、光田抗原では9~10mm、D抗原では7~8mmを示していた。そして4週目における反応値は、いずれの抗原でも7mm以下の硬結を示すにすぎなかった。これに対し健康未感作モルモットにおける各抗原による反応では、図1, 2の如く、24時間値では約3mmの硬結を示したが、48時間目以後は反応が減弱し、光田抗原およびD抗原による反応では注射後7日目には殆んど硬結を触知せず、また組織乳剤加人型結核菌或はBCG死菌浮遊液による反応では7日目に1.4mmを示し、2週目以後はいずれの抗原によっても反応は認められなかった。すなわち、未感作モルモットのみでなく、人型結核菌或はBCGの感作モルモットにおいても、抗原注射後4週目に24或は48時間に認められた反応値よりも大きな反応を認めることは出来なかった。

考 按

健康人におけるツ反応とレ反応との間にはかなり高い相関が認められることは既に報告したが¹⁾、健康人の中でも地域によっては両反応間の相関の低いところがみられた。この地域差のみられる原因が住民が汚染されている抗酸菌のうち人型結核菌とBCGとに関係が深いよう

に考えられたので、モルモットにおける基礎実験を行った。

動物試験で人型結核菌或はBCGとらい菌との関連性を皮内反応の面から研究する直接的な方法としては、らい菌による感作動物について人型菌由来のツベルクリンとBCG由来のツベルクリンとによる反応を比較することであるが、モルモットをらい菌で感作する柳沢らの方法^{5, 6)}は大量の菌を必要とするので困難であるため、本研究には間接的な方法を用いた。すなわち、人型結核菌青山B株およびBCGの死菌感作モルモットについて、人型結核菌由来の旧ツベルクリン或は予研製 PPD-s とD抗原とによる反応との比較を行った。その結果、実験I, II いずれの成績でも、両感作動物における人型結核菌由来のツ反応値がほぼ等しい場合に、D抗原による反応値は人型結核菌感作動物群よりもBCG感作動物群の方が大きかった。そしてこの成績は、死菌感作後5~18週のいずれの検査においても、また24時間判定値のみでなく48時間判定値においても認められた。従って、極めて共通抗原の場が多い人型結核菌とBCGとをらい菌との関連性でみると、らい菌は人型結核菌よりもBCGに共通抗原の場を多くもっていると言えよう。柳沢らがさきに報告した^{1, 5)}感作モルモットにおけるツ反応とレ反応との関係をかかると比較してみると、数匹ずつの試験成績にすぎないが、われわれの上述の成績と同じ傾向にあることが窺われた。

光田抗原はらい患者の組織およびその成分とらい菌と

が混在している抗原である。そこで水溶性抗原であるツベルクリンの代りに、光田抗原と同一条件にある人型結核菌或は BCG 由来の抗原を作るために、さきに組織乳剤による皮内反応検査時に用いた健康人の皮膚組織乳剤³⁾に人型結核菌および BCG の生菌 0.01mg ずつを加え、高圧殺菌した組織乳剤加死菌浮遊液を用いた。そして人型結核菌および BCG の感作動物について、光田抗原および死菌浮遊液による反応との比較を試みた。その結果、組織乳剤加人型結核死菌浮遊液による反応値は両感作動物群間で大差がみられないが、光田抗原および D 抗原による反応では BCG 感作動物の方が人型結核菌感作動物よりも大きな反応値を示していた。この現象は、組織乳剤加抗酸菌浮遊液による検査においても、らい菌は人型結核菌よりも BCG により多くの共通抗原を有することを示唆している。

さて人型結核菌或は BCG の死菌感作動物における 4 種の抗原による皮内反応の硬結値を抗原注射後 4 週目まで観察した実験Ⅱの成績では、さきに柳沢らが報告した成績¹⁾とやや異なる興味ある成績がみられた。

4 抗原による反応はいずれも 24 時間値が最大値であり、その後急に反応は減弱し、5 日以後 14 日までの反応値では余り変動がなく、4 週目に至ってもかなりの硬結値を示していた。すなわち、光田抗原による反応では、1～2 週には 9～10mm、4 週目には 7mm であり、また光田抗原と同一条件で作られた組織乳剤加人型結核菌或は BCG の死菌浮遊液による反応でも、1～2 週には 10.5～12mm、4 週目には 6～7mm の硬結を認めた。これに対し、組織を含まない死菌浮遊液、D 抗原による反応では、1～2 週には 7～8mm、4 週目には 2～3mm の硬結を認めたにすぎず、組織乳剤を含む抗原による反応値よりも小さかった。しかし、いずれの抗原による反応でも、抗原注射後 2～4 週目において 24 時間値に匹敵する反応を認めることは出来なかった。

次に、未感作健康モルモットにおける 4 種の抗原による皮内反応成績を時間的に観察すると、いずれの抗原による反応でも 24 時間値が最高 3mm で、その後減弱し、光田抗原および D 抗原による反応は 1 週目には殆んど消失し、組織乳剤加人型結核菌或は BCG 死菌浮遊液による反応は 10 日目頃に殆んど消失していた。そして抗原注射後 2 週以後には殆んど皮内反応を認めることは出来なかった。Wade⁴⁾は、光田抗原による反応は preexistence hypersensitivity を示すものであるから、人体では早期反応で判定するよりも晚期反応でみるべきことを提唱し、多くの研究者がこの考え方を支持している。かかる

現象が人体で認められるならば、動物での皮内反応では如何であろうか。

光田抗原や本研究に用いた組織乳剤加結核菌或は BCG の死菌浮遊液は一種の vaccine と考えうるので、かかる抗原の皮内注射によって動物は感作されることはわれわれがすでに報告した⁷⁾。しかし未感作モルモットおよび結核菌或は BCG の感作モルモットでしらべた本報での成績では、抗原注射後 4 週目までにはその抗原によって感作されているに拘らず、感作時に注射された抗原によって感作された証拠を示す反応性は認められず、いずれの反応値も抗原注射後 5 日目以後には徐々に小さくなっていた。但し、第 1 回目注射後 4 週目にかかる抗原を再注射すると、この注射抗原に対して感作程度に合致した皮膚反応の大きさを示してくることは報告した⁷⁾通りである。従って、Wade が述べる如き現象は動物では証明することは出来なかった。

結 論

ツ反応と D 抗原による皮内反応との関係を一般住民について調査すると、両者の関連性は地域によって差のあることが認められた。そこで、ツ反応に関係の深い人型結核菌および BCG とらい菌との関係を、動物における皮内反応によってしらべた。

人型結核菌或は BCG の死菌によって感作したモルモットにおいて、人型結核菌由来の旧ツベルクリン或は PPD-s と D 抗原とによる反応の比較、或は組織乳剤加人型結核死菌浮遊液と光田抗原とによる反応の比較を行った。その結果、両感作動物におけるツ反応の大きさ或は組織乳剤加人型結核死菌浮遊液による反応の大きさはほぼ等しいにも拘らず、D 抗原或は光田抗原による反応の大きさは、人型結核菌感作動物におけるよりも BCG 感作動物における方が大きかった。従って、らい菌は人型結核菌よりも BCG により多くの共通抗原を有するものとする。

また本研究において、感作動物および健康動物における光田抗原或は組織乳剤加結核死菌浮遊液による反応値を、抗原注射後 4 週目まで観察した。その結果、抗原注射後 5 日以後の反応値には 24～48 時間値よりも大きな反応はみられず、動物における反応は 24 時間値を最高とし、その後は減弱するのみで、Wade が提唱している preexistence hypersensitivity を思わせる現象は認められなかった。

文 献

WHO Technical Report Series, No.189 (1958)

- 1) 柳沢謙・他：レブラ, 24 : 353 (昭30)
- 2) 前田道明・他：結核, 40 : 307, 351 (昭40)
- 3) 前田道明・他：レブラ, 33 : 7 (昭39)
- 4) WHO Expert Committee on Leprosy, 2nd Report.

5) 柳沢謙・他：レブラ, 25 : 192 (昭31)

6) 柳沢謙：胸部疾患, 3 : 151 (昭34)

7) 前田道明・他：レブラ, 34 : 250 (昭40)

(日本らい学会総会発表)