野兎病ワクチンの基礎的研究

IV. 感染防禦能の消長

佐藤 久 藏

伝染病研究所 福島出張所

〔受付: 4月1日・1958年〕

野兎病ワクチンのうち、固型培地に培養した菌にクローム明礬を処理して作製したワクチン（クロームワクチンと呼称）の感染防禦能は、他の薬品を以て処理したワクチンよりも恒にまさること、液体培養菌と孵化鶏卵培養菌を以て作製したワクチンはクロームワクチンに追従できないが、たゞ鶏卵ワクチンを超遠心法によつて菌体だけを蒐集したものゝ感染防禦能は、クロームワクチンに匹敵するばかりでなく、接種反応の軽微な点で最もすぐれていること、及び、感染組織ワクチンは接種反応は強く、しかも、感染防禦能は甚だ低かつたことなどの実証を与えたが、更に感染防禦能の消長について追及したので、茲にその結果を報告する。

実験方法

i) 使用菌株及び試験

菌株は福島市大原綜合病院より分与を受けた次の2株である。

38株: 1920(大正9年) Francis が人体より分離したほとんど無毒と称せられてゐるもので、これを4週令 dd 系マウスに2~5 mg, 中等度モルモットに5~10 mg を皮下接種によつて発病致死せしめないもので、生菌ワクチンとして、また、死菌ワクチンとして用いた。

蛭名株: 昭和25年(1950) 我国で、大原病院において人体より分離せられ、4週令 dd 系マウスの皮下接種によつて 10^{-6} ~ 10^{-9} mg で致死せしめるもので専ら攻撃菌として用いた。

試験: 体重10~15gの dd 系マウスである。

ii) ワクチンの作り方 生菌ワクチンは、新鮮培養を以て mg/ml の食塩水浮游液とし、死菌ワクチン即ちクロームワクチンは、固型培地に48時間培養した菌を1%ホルマリン食塩水を以て200~300 mg/ml の浮游液を作り、0.2%クローム明礬水を等量加え、37°C におい

て5日間放置して不活化を確め、食塩水を以て菌体を数回洗滌し、濃厚菌浮游液となし、それに0.5%の割合に石炭酸を加えて保存し、使用にあつて食塩水を以て mg/ml に稀釈した。

iii) 接種及び観察——接種はすべて皮下に行い、観察は攻撃菌接種後3週間行つた。

実験成績

1. 感染防禦能の出現時期

感染防禦能の出現を窺知するために、極めて少量のワクチンを唯一回接種して、極めて短期間に攻撃した。

其の1: 死菌ワクチンを0.1 mg 接種し、2日、5日後攻撃——ワクチン接種後5日攻撃では全部生残し、2日後 10^{-6} mg が80%斃死せしめる菌の 10^{-2} ~ 10^{-3} mg 攻撃でも夫々80%生残するのを認めた(表1)。

即ち、かなり早期に感染防禦能が認められたので、次の実験を行つた。

其の2: 生菌ワクチン、死菌ワクチン共に0.1 mg を接種して攻撃——ワクチンを接種して1日後攻撃すると生菌ワクチン、死菌ワクチンでも対照は同じ稀釈で全部斃死しているのに対し、生残するものがあり、2日後攻撃でも一層その数を増し、3日後攻撃では更に生残するのを認めた。しかも、死菌ワクチン接種の方に生残するのが多かつた(表2)。

其の3: 死菌ワクチンを稀釈して唯一回接種して攻撃——死菌ワクチンの0.1 mg, 0.01 mg, 0.001 mg を

SATO Kyuzo: Basal Studies of Bacterium tular-
ense Vaccines. IV. Appearances and Disappearances of the protective Potencies, Fukushima Branch Laboratory of the Institute for Infectious Diseases, the University of Tokyo. — Jap. J. of Bact., 13 (11), 977-982, 1958.

表 1 死菌ワクチンを 0.1 mg を接種し、2 日と 5 日後攻撃

接種後攻撃迄の日数	攻撃菌量 (mg)					
	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷
2 日	1/5	1/5	0/5	0/5		
5 日	0/5	0/0	0/5	0/5		
攻 撃 菌				5/5	4/5	0/5

註：分母は接種した匹数を示し、分子は斃死匹数を示す。

表 2 ワクチンを 0.1 mg を接種して攻撃

ワクチン接種後	ワクチンの種類	攻撃菌量 (mg)				
		10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
1	生菌	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●
	死菌	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●
2	生菌	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●
	死菌	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●
3	生菌	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●
	死菌	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●
5	生菌	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●
	死菌	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●
7	生菌	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●
	死菌	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●
攻撃菌		●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●

註：○は生残、●は斃死を示し、数字は攻撃後斃死迄の日数を示す。

接種し、極めて短期間後に攻撃すると、これらのうち、濃厚 (0.1 mg) ワクチン接種では、対照は同じ攻撃量で全部斃死するのに、ワクチン接種後 1 日攻撃でも生残するものがあり、ワクチン接種して 3 日、7 日後攻撃すると、その数を増した。しかし、ワクチン 0.01 mg では生残する場合もあったが、0.001 mg ではほとんど全部が対照とかわりしなかった (表 3)。

小括：マウスの皮下に無毒野兎病菌の生菌ワクチン又はその死菌ワクチンを接種して、1 日後、強毒菌を皮

表 3 死菌ワクチンを稀釈して 1 回接種して攻撃

ワクチン接種後攻撃迄の日数	ワクチンの接種量 (mg)	攻撃菌量 (mg)			
		10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
1	0.1	●●●●●●●●	●●●●●●●●		
	0.01	●●●●●●●●	●●●●●●●●		
	0.001	●●●●●●●●	●●●●●●●●		
3	0.1	●●●●●●●●	●●●●●●●●		
	0.01	●●●●●●●●	●●●●●●●●		
	0.001	●●●●●●●●	●●●●●●●●		
7	0.1	●●●●●●●●	●●●●●●●●		
	0.01	●●●●●●●●	●●●●●●●●		
	0.001	●●●●●●●●	●●●●●●●●		
攻撃菌		●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●

下接種すると、同じ稀釈では生菌ワクチンでも死菌ワクチンでも生残するのがあつて、とくに、死菌ワクチンにおいてその数が多かつた。

2. 感染防禦能の推移

ワクチンは 3 日間隔を以て 0.1 mg より始め等差級数的に 1.0 mg を 4 回に分割して接種し、接種完了後、2 週、1 ヶ月、3 ヶ月、6 ヶ月後攻撃したところ、2 週後の攻撃では、死菌ワクチンの感染防禦能は生菌ワクチンより僅かにまさつたが、1 ヶ月後の攻撃では生菌ワクチンの方は遙かにまさつた。3 ヶ月後の攻撃では両方の

図 1 感染防禦能の推移

註：□ 生残 ▨ 斃死

対照は攻撃に用いた菌量を同数のマウスに同時に接種した

写真 1. 対照—8日目斃死マウスの肝臓の高度の壊死巣と周辺肝細胞の高度変性を示す (H.-E., $\times 1,200$)

写真 2. 対照—8日目斃死のリンパ節の広範な壊死巣を示す (H.-E., $\times 120$)

写真 3. 生菌ワクチン接種完了後 14 日目攻撃し, 21 日後屠殺した肝臓—
高度の星細胞の肥大と増生を示す (H.-E., ×1,200)

写真 4. 死菌ワクチン接種完了後 14 日目攻撃し, 21 日後屠殺したリンパ節—
高度のプラズマ細胞の増生と竇細網症を示す (H.-E., ×600)

差はまったくなかったが、6ヶ月後の攻撃では生菌ワクチンの方は死菌ワクチンを凌駕していることがわかった(図1)。

以上の各時期に攻撃したものについて組織学的に検査すると、対照は何れも激しい敗血症死の所見を示し、肝臓、脾臓、淋巴節は組織の陰影を残したまゝ広範且つ高度の壊死に陥り、核破片も極めて少く、壊死巣の周辺には全く細胞の反応は認められないばかりでなく、所によって多数の菌集簇が認められた(写真1, 2)。これに対し生菌ワクチン又は死菌ワクチンを接種して2週、1ヶ月、3ヶ月、6ヶ月後攻撃すると、攻撃のために生じた病巣の数は少く、新に生じた病巣は増殖性で、肉芽腫形成の傾向が強く、かつ、各臓器に細胞内皮系細胞の増殖と形質細胞の増生が認められた(写真3, 4)。しかし、生菌ワクチン接種群は死菌ワクチン接種群に比較してこれら諸細胞の増殖が少々強く、新に病巣を作ることも多少弱いようであった。たゞ、攻撃後斃死した場合、対照に近い組織像を示し、肝臓、脾臓、淋巴節に壊死性変化を認めても、細網内皮系の反応に伴って壊死巣は限局化の傾向を示し、病巣には核破片も多くなり、星細胞と細網細胞の増殖を認め、菌の集簇は遙かに少なかった。

なお、生菌ワクチン、死菌ワクチンを接種して攻撃を行わずに、2週、1ヶ月、3ヶ月、6ヶ月後に屠殺した例では、肝臓、脾臓、淋巴節等の諸臓器に細網内皮系細胞の増殖と形質細胞の増生が認められたほか、肺には血管並に気管支周囲に淋巴球様細胞の増生を認めた。とくに、これらの諸細胞の増殖は攻撃後の生残群に比較すると弱く、しかも、2週、6ヶ月の例では軽度であった。

小括：生菌ワクチンと死菌ワクチンとの感染防禦能を経時的に比較して次の結果を得た。即ち、死菌ワクチンの感染防禦の成り立ちは、生菌ワクチンよりも幾分早いかわり長続きしないが、生菌ワクチンの方は僅かにおくれても長続きし、しかも強度である。

考 按

マウスの実験において、野兎病ワクチン対強毒菌の間に、しかもそれは生菌ワクチンでも、死菌ワクチンでも、極めて早い期間に感染が防禦せられるが、一方、マウスの皮下に野兎病菌(蛇名株)の致死量程度を接種して、3日経過しないと凝集素が産生されない(詳しくは稿を改めて報告する予定)点から、ワクチン接種後2日以内に感染が防禦せられるのは尠く共、抗体とは余り関係のない感染防禦能のように考えられ、このような早期感染防禦能の出現については、既に、Evans等¹⁾が百日咳ワク

チン対百日咳菌において遭遇し、ウイルスにおいては屢々観察せられる干渉現象と同一現象と思科する。

早期感染防禦能は別として、生菌ワクチンの感染防禦能の出現は、死菌ワクチンより幾分おくれて出現するが長続きする。しかも、死菌ワクチンより強い点では、工藤(治)等²⁾がモルモットについて38株を以て行つた成績の通りである。これは、要するに、生菌ワクチンでも死菌ワクチンでも、ワクチンの接種によって諸臓器の細網内皮系細胞並に形質細胞が増生するとともに感染防禦能を獲得し、その多くが攻撃に耐え、たとえ、攻撃に耐えなくとも、病巣はCoriell等³⁾の主唱するように極めて限局性であつて、むしろ、これを機会に諸細胞の増生が一層助長せられる傾向が認められた。しかも、この所見は、生菌ワクチンの方は死菌ワクチンより強いことは組織学的にも実証することができた。

結 論

1) 野兎病ワクチンの経時的感染防禦能を観察中、干渉現象と同一の現象を認めた。

この現象は生死ワクチンのいづれでも出現するが、甚しく微量では出現しない。

2) 生菌ワクチンの感染防禦の出現は死菌ワクチンより幾分おくれるが、持続性に富み、かつ強度である。

3) 生菌ワクチンと死菌ワクチンの同じ量が生体に及ぼす組織反応は同じ様相であつて、生菌ワクチンの方は死菌ワクチンより強い点、病理細菌学的に一致する。

本研究の概要は、昭和31年10月日本細菌学会第10回東北支部学会(盛岡市岩手医科大学)、及び文部省科学研究班第4回全国野兎病研究協議会(千葉大学)において発表した。

この研究は、文部省科学研究野兎病研究班員として為されたもので、班長であられた金沢大学々長戸田正三博士、東北大学教授桂重次博士の御鞭撻には満腔より謝意を表します。また菌株の分与、その他種々御便宜を与えられた福島市大原綜合病院長大原嘗一郎博士、病理組織の作製と組織学の御教示を賜つた福島医科大学病理学教室北村四郎教授、小島国次助教授並に大内サチ講師に衷心より感謝いたします。

なお、この研究の実施にあたり、その費用は文部省科学研究費に負うこと大でありますことを附記して、関係者各位に深謝いたします。

文 献

- 1) Evans D. G. and Perkins F. T.: Brit. Jour.

- of Exp. Path., 35, 603, 1954.
- 2) 工藤治助, 川上文雄: 国民衛生, 第13卷, 1号, 1頁, 昭11. 1936.
- 3) Coriell, L. L. Downs C. M. and Clapp M. P.: Jour. Imm., 56, 245, 1957.