INH の BCG 免疫に及ぼす影響について

豊原 希一 工藤 祐是 大林 容二

結核予防会結核研究所 (所長 隈部英雄)

[受付: 7月16日・1958年]

緒言

INHが結核化学療法剤として登場して以来、既に6年になるがその抗結核菌作用が極めてすぐれていること、内服でよいこと、服用量が少量でよいこと等の利点があるため Streptomycin と同等或はそれ以上に用いられる傾向にある。更に最近自然感染後早期に INH を投与し発病を防止せんとする所謂予防内服の問題が公衆衛生、臨床面からとりあげられてきた。しかし感染早期に INH を投与した場合、それによつて得られる免疫に何等かの影響をおよぼすのではないかという疑問が提起され実験免疫学の面からいくつかの業績が報告されている¹⁾²⁾³⁾⁴⁾。各報告はそれ自体多くの知見と示唆を与えるものであるが、実験計画に尚検討の余地があることもいふまでもない。そこで著者は結核免疫については既に幾多の研究がなされている BCG を用い先人の業績とやや趣を異にした実験計画をたて BCG による結核免疫におよぼす INH の影響を検討した。

実験方法

実験計画を図1に示す。実験材料は下記の如くである。

1. 動物

体重 300~350 g, Römer 反応陰性の モルモットを総計61匹用いる。細別すると I 群 9 匹, II 群 10 匹, III 群 12 匹, IV 群 10 匹, V 群 9 匹, VI 群 11 匹である。

2. 使用菌株:

a) BCG 生菌:

同一 Lot の凍結乾燥菌 (生菌単位 1 mg 中 8×10^6) を蒸留水により 10 mg/cc の懸濁液としてその 0.5 cc (5 mg) を I 群を除いた他の群の腹壁皮下に接種する。

b) BCG 死菌:

凍結乾燥 BCG を加熱死菌とし、その 5 mg を I 群に接種する。

c) KH₁:

同一 Lot の凍結乾燥人型結核菌 KH₁ (生菌単位 1 mg 中 15×10^6) を用い蒸留水により 0.02 mg/cc の懸濁液としこの 0.5 cc 即ち 0.01 mg を腹壁皮下に注射する。

図1 実験計画

3. INH:

10 mg/cc の水溶液とし、その 0.5 cc 即ち 5 mg を毎日皮下に注射する。I および II 群は BCG 接種 5 日前より INH 注射をはじめ BCG 接種後 4 週までつづける。IV

TOYOHARA Mareichi, KUDO Sukeyoshi, OBA-YASHI Yoji: Effect of INH on immunization by BCG Research Institute of Tuberculosis, Japan Antituberculosis Association, — Jap. J. of Bact., 13(12), 1134-1138, 1958.

群はBCG接種後2週よりはじめ4週間継続する。

BCG接種後2週毎即ちI, II群は第2, 4週, IV VI群は第2, 4, 6週, V群は第2週, およびKH₁感染後2週, 5週目に100×ツベルクリン(以下「ツ」と略)の皮内注射により「ツ」反応の変動を観察しKH₁感染後7週目に全動物を殺し肉眼的組織学的変化をみた。

実験成績

1. ツベルクリン・アレルギーの変動

図2に示す。ツ・アレルギーの強さは「ツ」注射後24時間の硬結をもつてし各群の平均値で比較した。

図2 ツベルクリンアレルギーの変動

a) BCG接種後 KH₁ 感染までのツ・アレルギーの変動

III群はBCG接種を行わないが4週目にツ反応を調べた。II, IV, V, VI群は2週目よりツ・アレルギーが発現するがII, IV群はまだ平均10mm以上の硬結を示すに至らない。これに反し, V, VI群は10mm以上の硬結を示す。2週目のツ・アレルギーの強弱を群別に比較検定すると表1のようになる。即ちVI群およびII群はI群にくらべ明らかにツ・アレルギーが強いがVI群とII群の間には統計学的に有意の差はみられない。次に4週目のツ・アレルギーの強弱を統計学的に検定すると表2のやうになる。即ちVI群はI, II, IV群にくらべ明らかにツ・

表1 BCG接種後2週目のツ・アレルギーの群別差の検定

群	P
VI と I	<0.01**
VI と II	>0.05
I と II	<0.05*

表2 BCG接種後4週目のツ・アレルギーの群別差の検定

群	P
VI と I	<0.01**
VI と II	<0.01**
VI と IV	<0.01**
IV と I	<0.01**
IV と II	>0.3
I と II	<0.01**

アレルギーが強い。しかしIV群とII群の間には有意の差はみられない。次にVIおよびIV群の6週目のツ・アレルギーの強弱を統計学的に検定すると1%以下の危険率で有意の差をみとめる。即ち明らかにVI群のツ・アレルギーがIV群より強い。

b) KH₁ 感染後のツ・アレルギーの変動

次に図1に示す各時期にKH₁ 0.01mgを各群のモルモットに感染せしめ感染後2および5週目のツ・アレルギーを比較検討した。

(i) 2週目のツ・アレルギー：(表3)

VI群を基本として考えるとIV群との差は有意でないがI, II, III, V群との間には有意の差がある。即ち後者よりは明らかにVI群のツ・アレルギーが強い。BCG接種をしなかったIII群はKH₁感染2週目ではまだツ・アレルギーは最も弱くBCG死菌接種のI群との間には有

表3 KH₁感染後2週目のツ・アレルギーの群別差の検定

群	P
VI と I	<0.01**
VI と II	<0.01**
VI と III	<0.01**
VI と IV	>0.05
VI と V	<0.05*
V と IV	>0.05
V と III	<0.01**
V と II	<0.05*
V と I	<0.01**
IV と III	<0.01**
IV と II	<0.05*
IV と I	<0.01**
III と II	<0.01**
III と I	>0.05
I と II	<0.01**

図3 肉眼的病変度

意の差はないがそれ以外の群にくらべるとあきらかに弱い。

(ii) 5週目のツ・アレルギー

図2にみるように各群とも殆ど差がなく統計学的にも各群の間に有意の差はない。Ⅲ群、Ⅰ群は2週から5週の間にそのツ、アレルギーは急速に上昇し、他群に追付く。Ⅱ群も多少上昇する。これに反しⅣ、Ⅴ群は2週と殆ど変わらずⅥ群は多少減弱する。結局、KH₁感染後5週目ではBCGによる前処理やINHの使用の影響はみられなくなる。

2. 屠殺時、内臓の肉眼的病変

各群ともKH₁感染後7週目に殺し臓器の肉眼的所見と脾重を比較した。その病変度と脾重は図3に示す通りである。まず臓器の肉眼的変化をヒストグラムでみるとⅢ群の変化が最大でⅠ群がこれにつぐ。ついてⅡ、Ⅴ群の順であるがⅤ群の病変は相当軽くⅡ群の半分程度であった。Ⅳ、Ⅵ群の病変は極めて軽く、特にⅥ群はリンパ腺の変化を全くみざるものが11匹中6匹におよんだ。次に腫重平均値を群別にみるとⅠ群 2.4g、Ⅱ群 1.7g、Ⅲ群 4.0g、Ⅳ群 1.2g、Ⅴ群 2.0g、Ⅵ群 1.0gとなる。各群の差の有意性を統計学的に検定すると表4の如くなる。即ちⅥ群の脾重はⅣ群をのぞき他群にくらべ明らかに少い。Ⅲ群の脾重は他のいかなる群よりも明らかに重い。またⅥ群とⅤ群の間には有意の差があるが、Ⅴ群とⅣ群の間には有意の差はない。Ⅰ群とⅡ群の間には有意の差はない。

表4 脾重の群別差の検定

群	P
ⅥとⅠ	<0.01**
ⅥとⅡ	<0.01**
ⅥとⅢ	<0.01**
ⅥとⅣ	>0.5
ⅥとⅤ	<0.05*
ⅤとⅣ	>0.05
ⅤとⅢ	<0.01**
ⅤとⅡ	>0.5
ⅤとⅠ	>0.5
ⅣとⅢ	<0.01**
ⅣとⅡ	<0.05*
ⅣとⅠ	<0.05*
ⅢとⅡ	<0.01**
ⅢとⅠ	<0.05*
ⅠとⅡ	>0.1

表 5 定量培養成績(平均値)

	I	II	III	IV	V	VI
G	191	154	222	1.1	158	0.2
H	13	5.8	43	0.1	2.6	0

G: KH₁接種局所リンパ腺いずれも臓器 1mg
H: 肝 中の菌数

表 6 各群臓器内生菌数の差の検定

群	臓器 KH ₁ 感染局 所リンパ腺	肝
VI と I	<0.01**	>0.05
VI と II	<0.01**	<0.01**
VI と III	<0.01**	<0.01**
VI と IV	>0.3	>0.5
VI と V	<0.01**	<0.05*
V と IV	<0.01**	>0.05
V と III	>0.05	<0.01**
V と II	>0.05	>0.1
V と I	>0.1	>0.1
IV と III	<0.01**	<0.01**
IV と II	<0.01**	<0.05*
IV と I	<0.01**	>0.1
III と II	>0.05	<0.01**
III と I	>0.05	<0.01**
I と II	>0.1	>0.3

3. 臓器定量培養成績

動物屠殺時、膝へきリンパ腺即ち KH₁ 感染局所リンパ腺と肝の定量培養を行い臓器 10mg および 1mg 中の菌数を比較した。成績は表 5 に示す。各群の 1mg 中の菌数の差を統計学的に検定すると表 6 の如くである。局所リンパ腺中の菌数についてみると VI 群と IV 群との間には有意の差はみられないが、VI 群と IV 群以外の群との間には 1% 以下の危険率で有意の差がみられる。即ち VI 群の局所リンパ腺中菌数が明らかに少い。また IV 群も VI 群をのぞいた他群との間に 1% 以下の危険率で有意の差があり、明らかに他群にくらべ菌数が少い。V 群と I, II, III 群の間には有意の差はない。次に肝臓中の生菌数を比較すると VI 群は II, III, V 群にくらべ明らかに少い。これに対し IV 群は II, III 群にくらべると明らかに少いが、V 群との間には有意の差はない。I, II 群も III 群にくらべると明らかに少い。しかし I, II 群の間には差はない。

4. 病理組織学的所見

各群とも肝および肺切片のヘマトキシリン・エオジン染色並びに鍍銀染色を行い病理組織学的所見を比較し

た。

I 群の変化

肝——類上皮細胞結節が多数存在し中には結節が融合し、かなり大きくなっているものもある。

Glisson 氏鞘には円形細胞浸潤あり、胆毛細管の増殖がみられる。

肺——大なる類上皮細胞結節多数あり、リンパ濾胞が多い。

II 群の変化

肝——大小の類上皮細胞結節が相当数ある。Glisson 氏鞘には所々細胞浸潤あり。

肺——中心壊死をみとめる結節を僅にみとめる。間質には非特異的細胞浸潤あり。

III 群の変化

肝——巨大細胞をもつた類上皮細胞結節が多数存在し融合している。

肺——大きな類上皮細胞結節が多数存在する。

IV 群の変化

肝——小さい類上皮細胞結節がわずかにみえる。

肺——リンパ濾胞が僅に存在する。

V 群の変化

肝——比較的小さい類上皮細胞結節が比較的多い。

Glisson 氏鞘に細胞浸潤をみとむ。

肺——結核結節をみとめず。間質の細胞浸潤をみとむ。

VI 群の変化

肝——僅かの結核結節をみとむ。

肝——変化殆どなし。

考 察

緒言でふれた如く I NH が BCG 免疫にいかなる影響をおよぼすかという問題については既にいくつかの報告がある。この問題には BCG 接種菌量、感染強毒菌量、I NH 投与量および投与時期等多岐にわたる条件が介在しており一定の結論をうることは困難である。しかし BCG 接種後早期に I NH を投与すれば BCG 免疫力は著しく減少するという点については諸家の見解は概ね一致しており著者の実験でも同様の成績をえている。即ち II 群は BCG 死菌を接種した I 群に比して肉眼的変化は僅に軽度であるが脾重、臓器定量培養では有意の差をみとめないほど免疫形成は阻害されている。しかし BCG による ツ・アレルギーは明らかに II 群が I 群よりつよく加熱死菌とは異つた態度を示す。また II 群の BCG による ツ・アレルギーは VI 群に比し明らかに弱

い。次にINHをBCG接種後2週目に開始した場合BCG免疫力はINHに影響されず上昇をつづけるものか或は免疫力上昇が停止するものか否かをV群とVI群を対照としIV群の成績から考察した。肉眼的組織学的変化についてみるとVI群はIV群より僅に軽度であるが脾重、臓器定量培養も両群に有意の差はなかつた。これに対しV群はIV群より明らかに病変が強い。また肝中のKH₁生菌数には有意の差はないがKH₁感染局所リンパ腺中の生菌数はV群が明らかに多い。以上の点からBCG接種後2週目からINHを投与しはじめても免疫力は更に上昇をつづけ免疫におよぼすINHの影響はさして強くないようである。しかしBCGによるツ・アレルギーはVI群がIV群より明らかに強くINHは早期投与の場合でも2週後投与の場合でもBCGツ・アレルギーの上昇に対しては抑制的に働くやうであり、この観点よりすればツ・アレルギーと免疫とは必ずしも平行するものではないと思われる。本実験ではBCG接種菌量5mg, KH₁感染量 $1/100$ mgであり、この接種並びに感染菌量をかえれば実験成績の変動があることは十分予想されるが、いずれにせよIV群とVI群の病変には殆ど差がなくIV群はV群より明らかに軽度であつた。IV群ではINH投与により2週以後の菌増殖の可能性はないものとすれば両群の間にみとめられた免疫力の差異はIV群では2週以後7週迄の菌と生体とのinteractionが免疫の増強に寄与しているものと考えねばならぬ。またIV群とVI群の間に殆ど病変に有意の差がみとめられぬということはVI群における生体内の菌増殖は2週でほぼ最高に近づいていたため、その免疫原の量的差異が余りなかつたものとみるべきではないか。Bloch⁵⁾はBCGとH37Raの免疫力の比較およびBCG接種後早期にINHを投与することによる免疫力におよぼす影響の軽微であつたこと等の所見より“免疫の成立にとつて生菌の存在は必要であつても菌の体内増殖は必ずしも必要でない”という従来の研究者のそれとは稍異なる見解をのべたが本実験でBCG接種前よりINHを投与した群の免疫力が2週間BCGの体内増殖を許して後INHを投与した群とは著明な差

異がある所よりみて菌の生体内増殖による免疫原の量的な差異は免疫の強さに著しい影響を与えているものと考えられる。

結 語

BCG免疫におよぼすINHの影響を観察し次の結果をえた。接種BCG菌量は5mg, KH₁感染菌量は0.01mg 投与INH量は1日5mg, 4週間皮下注射する。

(1) BCG接種5日前よりINHを投与すると免疫形成は極めて阻害される。またBCGによるツベルクリン・アレルギーの上昇もINHを投与せざる群にくらべれば明らかに抑制される。尚BCG死菌接種INHを投与した群より免疫力形成は僅に大であるようにみえるが有意の差ではない。しかしBCGによるツベルクリン・アレルギーは死菌接種の場合よりは明らかに上昇する。

(2) BCG接種後2週よりはじめると免疫形成におよぼすINHの影響は殆どみられない。しかしBCGによるツベルクリン・アレルギーの上昇はINHを投与しない群にくらべると明らかに抑制される。

(3) BCG死菌接種INH投与群と前処置なくKH₁のみを感染した群をくらべると前者の免疫形成が明らかにつよい。

謝 辞

稿を終えるにあたり病理学的所見の御指導をいただいた岩崎部長並びに実験遂行上多大なる労をわずらわせた吉川嬢に深謝致します。尚本論文の要旨は昭和33年度日本細菌学会総会において発表した。

文 献

- 1) Dubos R.: Am. Rev. Tbc, 74-4, 541-552, 1956, 10.
- 2) 前田道明: 最新医学, 11-10, 261-266, 1956, 10.
- 3) 海老名昭: 抗研誌, 12-2, 244-250, 1956, 10.
- 4) 遠藤勝三: 阪大医学雑誌, 9-11, 958-968, 1959, 11.
- 5) Bloch H. et al.: Am. Rev. Tbc, 71, 228, 1955.