Vole Bacillus に関する研究 (第3報)

(感染防禦力について BCG との比較実験)

林 治

國立公衆衛生院衛生微生物学部 (部長 染谷四郎)

〔受付: 3 月 27 日, 1951 年〕

1. 緒 言

Vole Bacillus (以下 Vole 菌と略) が結核菌の感染に対して BCG と同程度の感染防禦力を有することを初めて報告したのは 1940 年 Wells & Brooke¹⁾ の海狸による実験と, 同年 Griffith & Dalling²⁾ の鰐にする BCG との比較実験であろう。

次いで, Corper & Cohn³⁾, Birkhaug⁴⁾, Peterson⁵⁾ 等が海狸について何れも BCG と比較実験を行い, その結果は研究者により幾分異るとしても大体 BCG と同程度或はより以上の感染防禦力を有することが示されている。

さらに Birkhaug⁶⁾, Wells⁷⁾ によつて人体接種実験も行われ, 最近 Wells の報告によると動物実験と同様人体においても Vole 菌ワクチンの予防効果のあることを示している。

我が国においても室橋等⁸⁾ が海狸について BCG と少量免疫接種による比較実験を行い BCG よりは幾分感染防禦力の勝つてゐることを報告している。

著者は今回海狸について, Vole 菌の感染防禦力を免疫後の人型結核菌感染による各臓器結核性病変の肉眼的観察と, 臓器定量培養による感染結核菌の消長について BCG と比較実験した。

2. 実験方法

実験に使用した海狸は体重 350~400 g の健康なるもの 45 匹を選んだ(予め Römer 反応を行いその陰性なることを確かめた), これを 15 匹づゝ 3 群に分け, 第 1 群には Vole 菌の馬鈴薯グリセリン培地 3 週培養, 第 2 群には BCG の同培地 2 週培養をメノー乳鉢でよく研磨し滅菌生理食塩水に 1 cc 中 10 mg の均等浮游液を作りこの 0.5 cc (5 mg) を左下腹部皮下に接種した, 以後 5, 10 日, 3, 4, 5, 6 週後の接種局所淋巴腺の変化並びに体

重の増減を毎週測定して両菌の毒力程度を併せ観察した, 接種 6 週後に旧ツベルクリン 10 倍液 0.1 cc 皮内注射によるツベルクリン反応を行い判定は 24 時間後に行つた。

ついで免疫 6 週後に強毒人型結核菌馬場株の食塩水浮游液 0.01 mg を両免疫群並びに対照健康海狸の右下腹部皮下に接種した, なお接種菌浮游液を稀釈してその 0.1 cc を 1% KH_2PO_4 培地に流注培養した結果, 感染菌数は大体 1,500 かであつた, 以後毎週感染接種局所, 局所淋巴腺及び体重の増減状態を測定した。

結核菌感染後 6 週及び 10 週に前述と同様ツベルクリン皮内反応を行い, 各群 5 匹宛を殺して内臓々器並びに各淋巴腺における結核性病変の程度を肉眼的に観察し, 同時に各群 3 匹宛について観察臓器の定量培養を小川⁹⁾の方法によつて行つた, 発生した集落数は培地 5 本の平均数を求め, 対照群にては臓器 0.01 mg 中, 両免疫群にては臓器 10 mg 中の生菌数に換算した。

3. 実験成績

1) Vole 菌及び BCG 接種後における接種局所及び局所淋巴腺の変化。

第 1 表に示す如く Vole 菌の毒力が BCG に較べ明かに強いことが見られる。すなわち接種 5 日後には両群の間に差が見られないが 10 日後における接種局所が Vole 菌群では 15 匹中 12 匹に膿瘍形成が見られたが, BCG 群ではわずかに 2 匹であり, 3 週後においても Vole 菌群に 4 匹の潰瘍形成を見たが, BCG 群には一例も見られなかつた。局所淋巴腺の変化においては両群の間に著しい差は見られないが總体的に見て幾分 Vole 菌群が強い傾向を示している。

なお体重の減少を示したのは両群ともなく又, 途中で斃死したものは両群とも各 1 匹がグラム陰性桿菌による敗血症で斃死した。

2) 結核菌感染による接種局所及び局所淋巴腺の変化 第 2, 3 表に示す如く, Vole 菌群では BCG 群に比し,

HAYASHI, Osamu: Studies with the vole bacillus (3rd. Report, Immunization) From the Department of Public Health, Institute of Public Health.

第1表 Vole 菌及び (BCG) 接種局所並びに
局所淋巴腺変化の比較

観察日数		5 日	10 日	3 週	4 週	5 週	6 週
接種局所	硬 結 膿 瘍 潰 瘍 痂 皮 瘻 痕	14(16) 1	3(14) 12 (2)	5(11) 6 (5) 4	2 (6) 5 (4) 6 (3) 2 (2)	1 (2) 8 (8) 5 (5)	1 (2) 14(13)
局所淋巴腺	一 士 十 卅	7 (7) 6 (8) 2 (1)	1 4 (7) 9 (9) 1	(4) 14(12) 1	1 (1) 6 (8) 6 (6) 1	1 (1) 6 (9) 6 (5) 1	1 (9) 7 (4) 6 (2)
観察總數(各)		15(16)	15(16)	15(16)	14(15)	14(15)	14(15)

註 一=變化なし 士=對側より幾分硬く觸れる
十=米粒大 卅=小豆大

接種局所変化の発現時期は殆んど同時であるが治癒傾向が早い様に見られた、又局所淋巴腺の変化も幾分軽い様に見られる。

3) 結核菌感染後における内臓々器の結核性病変の肉眼的剖検所見

結核菌感染6週後における肉眼的剖検所見を示すと第4表の如くであり、同10週後の所見は第5表に示す如く

である、又これをヒストグラムで示すと第6表の如くなる。

対照群に較べて BCG 群に著明な感染防禦力が示されていることは一目瞭然であり、さらに Vole 菌群が BCG 群に較べて幾分勝っていることが見られる、すなわち感染6週後における淋巴腺変化においては両群の間に著しい差を見ることは出来ぬが内臓とくに脾において BCG 群には5匹中3匹に少数ではあるが微細な小結節を明かに認めたが、Vole 菌群では5匹中2匹に軽度の腫大が見られたのみで残り3匹は全く正常であつた、又脾の平均重量も Vole 菌群では 0.59 g に対し BCG では 0.70 g、(対照群 0.88 g) であつた。

さらに感染10週後においては、淋巴腺の変化とくに門脈腺が BCG 群では大豆1、小豆大を示したものが2匹でしかも5匹中2匹に乾酪化を認めた。これに対し Vole 菌群では米粒大を示したものが4匹で、残り1匹は小豆大で、乾酪化を示した。又脾における変化も感染6週後の成績と殆んど同様で Vole 菌群には結節形成を示したものは1匹もなく、その平均重量も 0.64 g であつた。BCG 群では5匹中3匹に少数の結節形成が見られその平均重量も 0.76 g であり 両群の間には明かに差を認めることが出来る(対照群 1.85 g)。

4) 感染結核菌の各臓器における消長

第2表 結核菌感染における接種局所変化の比較

観察日数(週)		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
群 別	對 照										
	Vole BCG										
一	對 照 Vole BCG	3 1									
I	對 照 Vole BCG	7 6 6	4 2 4		2	1 2	1	1	2 1	1	
A	對 照 Vole BCG	3 4	5 4 1	5 2 5	1 1 1	1	2				
U	對 照 Vole BCG		1 4 5	5 4 3	9 1 3	10 1 3	10 4 5	4 1	5 1	3 1	3 1
C	對 照 Vole BCG			4 2	7 3	5 2	5 3	2 2	1	2 2 1	2 3 1
S	對 照 Vole BCG				1 1	2 3		2 2	2 3	2 3	2 3
観 察 總 數 (各)		10	10	10	10	10	10	5	5	5	5

註
一=變化なし
I=硬結
A=膿瘍
U=潰瘍
C=痂皮形成
S=瘻痕

第3表 結核菌感染後における接種局所淋巴腺変化の比較

観察日數 (週)		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
群 別											
±	對 照 Vole BCG	2									
+	對 照 Vole BCG	7 10 8	6 2	2 1	1						
++	對 照 Vole BCG	1 2	4 8 7	4 9 2	2 8 2	1 7 1	7 1	4	3	3	3
+++	對 照 Vole BCG		3	4 8	7 1 6	7 3 7	8 3 7	3 1 2	2 1 2	1 1 2	1 1 2
冊	對 照 Vole BCG				1 2	2 2	2 2	2 3	3 3	4 3	4 3
觀察總數 (各)		10	10	10	10	10	10	5	5	5	5

註
±=對側より幾分硬く
觸れる

+=米粒大

++=小豆大

+++ =大豆大

冊=蠶豆大

第4表 結核菌感染6週後における結核性病變の比較

實驗群	海猿番號	局所變化	體重及 減	淋巴腺								內臟					ツ反應		
				右膝髌腺	左膝髌腺	右腋窩腺	左腋窩腺	右後腹腺	左後腹腺	門脈腺	後胸骨腺	肺	肝	脾	腎	脾重量	感染前	解剖時	
對照群	1	U	490 +30	(冊)	+	+	-	(++)	+	(冊)	+	冊	++	冊	-	0.9	—	16×14 23×22	
	2	U	369 -35	(冊)	+	+	-	(++)	++	(冊)	+	++	++	冊	-	0.5	—	18×14 26×21	
	3	U	470 +46	(冊)	+	+	+	(冊)	+	(冊)	(++)	++	+	冊	-	0.9	—	14×16 20×21	
	4	U	505 +75	(冊)	+	+	-	(冊)	+	(冊)	+	++	++	冊	-	1.1	—	13×11 19×18	
	5	U	430 +20	(冊)	+	+	-	(冊)	+	(冊)	+	冊	++	冊	-	1.0	—	10×14 18×18	
Vole 菌免疫群	6	C	500 +80	(冊)	+	+	+	-	-	+	-	+	-	±	-	0.55	14×11 25×17	11×13 20×20	
	7	S	585 +50	(冊)	+	+	-	+	+	+	±	+	-	-	-	0.55	9×9 20×18	11×10 20×23	
	8	S	550 +125	(冊)	-	+	-	-	-	+	±	+	-	-	-	0.5	18×9 23×13	10×10 17×19	
	9	C	560 +45	(冊)	+	+	-	+	+	+	-	+	-	±	-	0.64	24×13 29×14	20×13 25×19	
	10	S	610 +20	(冊)	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	0.7	19×17 30×21	18×16 26×24	
BCG 免疫群	11	S	620 +70	(冊)	+	+	+	+	+	+	±	+	-	+	-	0.95	+	13×16 27×25	
	12	S	560 +90	(冊)	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	0.6	11×9 27×15	+	18×18
	13	C	430 -25	(冊)	+	+	-	+	+	+	±	+	-	±	-	0.5	14×10 23×14	13×14 22×21	
	14	S	660 +195	(冊)	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	0.75	20×13 28×17	18×14 29×26	
	15	S	630 +90	(冊)	+	+	-	+	+	+	-	+	-	±	-	0.7	20×14 25×17	11×10 24×23	

註 1) 局所及び淋巴腺變化の記號は第2,3表と同じ, 但し()は乾酪化を示す

2) 體重増減 上段は剖檢時體重, +及び-は感染より剖檢時までの増減

3) 内臟病變 ±=結節らしきもの又は僅かに腫大(脾), ++=結節5ヶ以内, +++=6~11ヶ
冊=11~20ヶ, 冊=融合

第5表 結核菌感染10週後における結核性病変の比較

實驗群	海狸番號	局所變化	體重増及減	淋巴腺								内臟					ツ反應	
				右膝髌腺	左膝髌腺	右腋窩腺	左腋窩腺	右後腹腺	左後腹腺	門脈腺	後胸骨腺	肺	肝	脾	腎	脾重量	感染前	解剖時
對照群	16	U	480 +75	(+++)	(++)	++	+	(++)	+	(++)	++	++	++	++	—	0.95	—	7×8 21×18
	17	U	600 +155	(+++)	++	+	—	(++)	++	(++)	++	++	++	++	—	4.05	—	20×13 22×19
	18	C	450 +46	(+++)	++	++	+	(++)	+	(++)	++	++	++	++	—	1.8	—	13×10 17×17
	19	C	490 +75	(+++)	(++)	+	—	(++)	++	(++)	++	++	++	+	—	1.05	—	+
	20	U	405 —20	(+++)	(++)	++	+	(++)	+	(++)	++	++	++	++	—	1.4	—	10×11 21×24 26×29
Vole菌免疫群	21	S	620 +10	(++)	±	+	±	±	—	(++)	+	±	—	±	—	0.82	17×10 25×13	+
	22	C	585 +15	(++)	+	—	—	±	±	+	±	±	—	±	—	0.75	14×11 25×18	+
	23	S	565 +5	(++)	+	±	—	+	—	+	±	±	—	±	—	0.6	20×11 29×17	+
	24	S	715 +90	(++)	+	—	—	±	±	+	—	±	—	±	—	0.55	14×9 21×13	11×10 20×17
	25	C	510 —35	(++)	+	±	—	+	—	+	±	±	—	±	—	0.5	9×9 21×15	+
BCG免疫群	26	U	610 +106	(+++)	+	—	—	+	—	(++)	+	±	—	+	—	0.62	17×11 23×16	9×7 16×15
	27	S	570 +100	(++)	+	+	±	++	—	+	±	±	—	+	—	1.02	+	+
	28	S	580 +25	(++)	+	+	—	±	—	+	±	±	—	+	—	0.95	13×9 26×17	+
	29	C	480 —70	(+++)	+	±	—	++	±	(++)	—	±	—	±	—	0.75	14×11 25×15	— 9×9
	30	S	420 —55	(++)	+	—	—	+	±	++	±	±	—	±	—	0.45	17×9 24×13	+

結核菌感染6週及び10週後における感染結核菌の消長状態を見ると第7及び8表に示す如くなる。

上記の肉眼的観察により各臓器における結核性病変で顯著であるとは云えなくとも明に Vole 菌群が BCG 群に較べ感染防禦力の強いことを示しているが、本実験成績ではさらに Vole 菌の優秀性が確かめられたと思う。すなわち Vole 菌群に感染結核菌が証明される臓器には必ず BCG 群にもより以上多数の菌が認められる。

とくに6週後の脾、10週後の肺及び脾に少数ではあるが BCG 群に菌の発生が見られたが Vole 菌群には全く認められなかつた。

4. 総括及び考按

結核の生菌免疫に関しては我が國においても多数の研究報告があるが、BCG の如く安全でしかも強い感染防禦力を持つたものはいまだに見当らない様である。1937年 Wells により結核菌類似の弱毒抗酸性菌として報告

された Vole Bacillus については欧米の研究者により数多くの業績が報告されている、とくに緒言で述べた如く結核に対する感染防禦力を有することが実証されたが、我が國においては最近まで何等の研究がなされていなかった。

著者は今回、予防衛生研究所柳沢謙博士が米國より送附された Vole 菌株の分與を受け免疫後の結核菌感染による各臓器結核性病変の肉眼的観察と、臓器定量培養による感染結核菌の消長について BCG と比較実験した。

実験の結果は欧米諸研究者の報告と殆んど同様に Vole 菌の感染防禦力が BCG に比し幾分勝ることを確かめた。

しからば人体接種への実用化はどうか——

緒言においてすでに述べた如く欧米の一部研究者により人体への接種実験が行われているが、著者はたとえ Vole 菌の感染防禦力が BCG に勝ることが実証されて

第6表 結核菌感染後における内臓及び淋巴腺の結核性病変比較

も、BCG の如く安易な気持ちで直ちに人体へ應用することにはなお深い疑いを持つものである。何故ならば Vole 菌の毒力に関する研究がいまだ充分に究明されたとは思えないからである。例えば動物体通過により毒力は増強されぬか、菌株により差はないか、(この点についてはすでに Young 及び Peterson¹⁰⁾ が兎、海猿は勿論のこと猿に対してすら毒性のある菌株が分離されたと報告し現今広く應用されんとする Vole 菌の使用に警告を発している)。これ等の点はいまだ未解決の問題であり、さらに毒力について明確な結論が得られるまでは Vole 菌の実用化は危険であると思う。

5. 結 論

Vole Bacillus の感染防禦力を BCG と比較実験し、次の如き結論を得た。

Vole Bacillus の感染防禦力は BCG と比較して幾分勝る様である。

終りに臨み御指導を賜つた部長染谷四郎博士に深謝する。

引用文献

- 1) A. Q. Wells and W. S. Brooke: The effect of vaccination of guinea-pigs with the vole acidfast bacillus on subsequent tuberculosis infection, Brit. J. Exper. Path., 21, 104~110, 1940.
- 2) A. S. Griffith and J. Dalling: Inoculation and immunity experiments on calves with the

第7表 感染6週後における臓器内生菌数

第8表 感染10週後における臓器内生菌数

- vole strain of acid-fast bacillus, *J. Hyg.*, 40, 673~680, 1940.
- 3) H. J. Corper and M. L. Cohn: Studies with the vole (meadow mouse) acid-fast bacillus, *Am. J. Clin. Path.*, 13, 18, 1943.
 - 4) K. Birkhaug: Immunization with the vole bacillus, *Am. Rev. Tuberc.*, 53, 411~426, 1946.
 - 5) J. C. Peteoson, D. W. Crombie and J. C. Coles: Protection by killed vole bacillus vaccine against experimental tuberculosis in guinea-pigs, *Can. J. Res. Sect. E. Med. Sci.*, 27, 37~42, 1949.
 - 6) K. Birkhaug: Vaccination with the vole bacillus (Wells). *Am. Rev. Tuberc.*, 54, 41~50, 1946.
 - 7) A. Q. Wells: Vaccination with the murine type of tubercle bacillus (vole bacillus)., *Lancet.*, July, 53~55, 1949.
 - 8) 室橋, 関, 高野: Vole Bacillus に関する研究, 第 23 回日本細菌学会総会記録(昭和 25 年)179~180 及び昭和 25 年 11 月学研結核研究綜合委員会細菌学的研究科会報告.
 - 9) 小川辰次: 結核菌の定量培養法について (其の 2) 動物臓器よりの培養法, 結核, 24, 19~24, 昭和 24 年.
 - 10) J. A. Young and J. S. Paterson: Virulence of a strain of the vole acide-fast bacillus (G 564), *Lancet.*, May. 707~709, 1947.
-