

天竺鼠に対するBCG経口接種について

室橋 豊穂・関 又蔵・高橋 宏

国立予防衛生研究所 結核部 (部長 柳沢 謙)

受付 昭和32年8月15日

緒 言

BCG接種によつて与えられるツベルクリン・アレルギーも免疫力も、他の接種方法に比すれば、経口接種によつては極めて不規則かつ弱いことが Calmette 以来多くの研究者によつて明らかにされている。著者の1人、室橋¹⁾は、嘗て幼若・成熟2群の天竺鼠に経口接種し、ツ反応がほとんど陽転せぬことを見たが、さらに Calmette の療法にしたがつて乳幼児に接種した西川²⁾、室橋³⁾の成績から見ても、例外的にしか陽転が認められず、したがつて、経口接種には免疫効果を期待し難いと結論されて、これに関する研究は最近までほとんど行われなかつた。もちろん当時においても、頻回、大量に接種する場合には、多少なり共免疫力増強の表現をとる可能性のあることが、佐竹・梅谷、米沢⁵⁾、米沢・梅谷^{6,7)}らの動物実験成績によつて指摘されてはいたが、所要菌量の遙かに少なく、接種方法の簡便でかつ効果のより確実な皮内接種法の前には、経口接種法はその必要性を認められるに至らなかつた。

諸外国においても全く同様に、皮下法 (Heimbeck)、皮内法 (Wallgren)、経皮法 (Weill-Hallé, Rosenthal, Birkhaug) などの普及に伴い、フランスの一部においてのみ経口接種法は僅かに続けられていたにすぎない。ところが、近年ブラジルにおいては、皮下あるいは皮内法による接種局所変化の軽減を図るために、de Assis ら⁸⁾が Calmette の原法を改めて大量のBCGを経口的に接種し、見るべき成績を得たと報告し、また台湾においては、皮内接種による副作用が特に生後1週以内の新生児に多かつた経験から、de Assis に倣つて試験的に大量経口接種を行つたところ、新生児においてのみはかなり高い陽転率が得られたと許⁹⁾は報告している。このような四囲の情勢から、わが国においてもこの問題が再びとり上げられ、海老名¹⁰⁾、戸田¹¹⁾、高野¹²⁾によりそれぞれ成績が報告され、その再検討が行われている。

われわれは、大量に経口接種されたBCGの体内における消長を調べ、この方法によつて与えられる免疫力の程度を検討するために、幼若・成熟2群の天竺鼠を用いて実験を行つたので、その成績を報告する。

実験材料ならびに方法

1) 新生児群としては、われわれの動物舎でほぼ一定時期に交配させて生れたものを、生後7日以内に用いた。同胞数の多少により初体重に差はあるが、ほぼ80~120gである。成熟群としては350~450gの雄を予めツ反応陰性なることを確かめて用いた。

2) 経口接種をなるべく確実に行うために、内径0.8mm、外径2mm、長さ50mmの細いゴム管を徐徐に胃内に挿入し、太い針をつけた1ml容量の注射器を接続して、1匹宛0.5ml (50mg) を注入した。菌液作製に用いたBCGのSauton培養日数は10~13日で、生菌単位数は1mg宛り、 70×10^6 (実験I)、 35×10^6 (実験II) および 13.6×10^6 (実験III) である。したがつて1匹宛全生菌数は 10^9 order となる。

3) BCGの運命を追求するためには、接種後24時間および以後週を追つて各群2匹宛を屠殺剖検し、リンパ腺および臓器の乳剤各10mgを培養、生菌数をしらべた (実験I)。

4) 免疫効果は、静脈内感染 (実験II) および皮下感染 (実験III) によつてしらべた。実験IIでは、経口群、皮下群、対照群にBCG接種後6~8週後人型菌H₂を静脈内に注射し、注射後24時間および以後週を追つて各群2匹宛を屠殺剖検し、罹患度の比較を行い肺、脾各10mg中の感染菌数の経時的消長をしらべた。実験IIIでは、幼若群のみを用い、経口群と対照群とにBCG接種6~8週後H₂株を皮下感染し、感染後6週目における罹患度ならびに肺、脾中の感染菌数の比較を行つた。

5) 人型菌H₂は凍結乾燥保存菌で、実験IIでは 21×10^6 /mgの生菌単位数のもの1/1000mg (成熟)~1/100mg (幼若)を0.5mlに浮遊させて静脈内に注射した。実験III aでは 23×10^6 /mgのもの0.1mgを、III bでは0.05mgをそれぞれ皮下感染した。

実 験 成 績

実験I 経口接種されたBCGの運命

接種後10週までのすべての時期において、剖検によりリンパ腺の腫脹も臓器の結節形成も全く見られない。リンパ腺および臓器から還元培養されたBCG菌数は表1の如くである。

1) 腸間膜リンパ腺: 24時間後幼若群の1匹に少数菌を認めしたが、成熟群では陰性。それ以後幼若群では1週

表1 経口接種されたBCGの天竺鼠体内における消長

接種後	新生児群					成熟群				
	動物番号	頸部リンパ腺	腸間膜リンパ腺	肺	脾	動物番号	頸部リンパ腺	腸間膜リンパ腺	肺	脾
24 hrs	111	0	0.7	0	0	33	0	0	0	0
	112	1.0	0	0	0	34	0	0	0	0
1 w	113	0	0.7	0	0	35	0	0.3	0	0
	114	1.3	0	0	0	36	0.7	0	0	0
2	115	0	0	0	0	37	0	0	0	0
	116	33.3	0	0	0	38	0	0	0	0
4	117	0.7	0	0	0	39	0	0	0	0
	118	9.7	0	0	0	40	0	0	0	0
6	119	88.0	0	0	0	41	0	0	0	0
	120	46.7	0	0	0	42	0	0	0	0
8	121	0	0	0	0	43	0	0	0	0
	122	25.3	0	0	0	44	100.0	0	0	0
10	123	300.0	6.0	0	2.7	45	0	0	0	0
	124	10.0	0.7	0	0	46	13.0	0	0	0

および10週にそれぞれ1匹および2匹から少数菌を、成熟群では1週目1匹に集落1個を検出したにすぎない。投与量が 10^9 orderであるから、大部分は排出されてしまったものと思われる。

2) 頸部リンパ腺: 幼若群では24時間~1週目に少数菌を見、以後漸次菌数を増して、6~10週では $10^1 \sim 10^2$ orderの菌がみられた。しかし成熟群では、1週目に少数菌を検出した1匹を除けば、陰性で、8および10週に各1匹から $10 \sim 10^2$ orderの菌を見出した程度である。

3) 臓器: 幼若、成熟両群共、肺は菌陰性、脾は成熟群陰性。幼若群で10週目1匹に少数菌を見出したにすぎない。すなわち、臓器への散布および増殖は極めて程度が弱いといえる。

4) ツ反応: 100倍旧「ツ」に対し、成熟群ではすべて陰性であるが、幼若群では2匹の平均において、6週7mm, 8週9mm, 10週13mmを呈した。

実験II 有毒菌静脈内感染に対する免疫効果

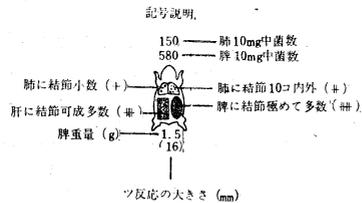
1) 成熟群: 感染直前すなわちBCG接種後6週目のツ反応は、皮下群平均18.6mmに対し、経口群は全く陰性である。剖検時肉眼所見は感染後2週目から著明で、罹患度は皮下群が最も軽く、経口群は対照群と同程度である。臓器内感染菌数もこれに相応し、皮下群は最も少なく、経口群と対照群は同程度の高い菌数水準をもつて経過した。(表2)

したがって、50mgのBCGを経口接種しても、成熟天竺鼠では1/100mg程度の有毒菌静脈内感染を防ぎえないことがわかる。

2) 幼若群: 実験の都合上感染をBCG接種後8週目に行つた。感染直前のツ反応は平均14.4mmで、皮下群の19.3mmよりやや弱い。感染菌量として1/100mgでは

表2 成熟群における H_2 1/100mg 静脈内感染後の剖検所見ならびに肺、脾各10mg中の感染菌の消長

感染後	24hrs	1W	2W	4W	6W	感染直前ツ反応(平均値)
経口群	1/75, 8/95 0.9(2), 0.4(0)	20/280, 30/500 0.5(0), 0.7(0)	1,500/23,000, 300/7,000 1.5(0), 1.4(3)	100/200, 200/4,600 2.3(0), 3.9(0)	90/250, 250/4,000 1.9(0), 2.1(0)	0.5mm
皮下群	3/67, 7/113 0.5(21), 0.4(16)	0/150, 0/50 0.9(18), 1.0(18)	50/400, 30/500 1.3(20), 1.5(15)	70/500, 30/500 1.3(19), 1.7(22)	6/700, 0.5/400 2.0(18), 2.3(19)	18.6mm
対照群	6/58, 8/72 0.8(0), 1.1(0)	0/400, 29/130 0.4(0), 0.7(0)	600/37,000, 200/25,000 1.3(0), 1.8(0)	300/4,900, 800/5,600 3.3(0), 3.5(0)	2,700/2,100, 2,200/4,200 1.8(0), 3.1(0)	0mm



やや強すぎるので1/1000mgを用いた。剖検所見は表3の如くで、経口群の罹患度は皮下群とほぼ同程度である。対照群では4週以後病変は著明であつた。臓器内有毒菌の消長は、剖検所見とよく平行し、経口群、皮下群はほとんど同等の菌数水準を示し対照群の2週以後の著しい菌数増加とは明らかに相違している。

表 3 幼若群におけるH₂ 1/1000mg静脈内感染後の剖検所見ならびに肺, 脾各10mg中の感染菌の消長

感染後	24hrs	1W	2W	4W	6W	感染直前ツツ反応(平均値)
経口群	1/8 0/11 	0/19 2/15 	10/550 0/200 	0/1,400 0/800 	0/2,400 + 	14.4mm
皮下群	1/5 1/5 	0/16 1/10 	0/50 1/150 	0/1,200 1/500 	0/4 2/900 	19.3mm
対照群	0/13 5/5 	1/8 2/8 	10/700 5/100 	110/11,000 350/3,000 	90/9,000 120/18,000 	0mm

いが、それでも均等によく感染している。これに対して経口群では明らかに病変が軽く、臓器からの検出菌数も1匹を除けば明らかに少ない。

総括考案

著者1人室橋¹⁾が嘗て幼若・成熟2群の天竺鼠にBCGを種々の経路をもつて接種した際に、経口接種に由つてはツ・アレルギーはほとんど発現せぬことを見、佐竹・梅谷⁴⁾、米沢⁵⁾も1回投与によつてはほとんど免疫効果の成立し難いことを述べている。当時の接種量が、前者では5~25mg、後者では1~5mgであつたことを考えると、接種量の多寡がまず問題となる。このことはすでに当時、米沢・梅谷^{6,7)}によつて、頻回かつ大量に接種すれば腸間膜リンパ腺にもある期間良性的結核性変化を生じ、ある程度感染防禦効果を取めうる事が示されていることから推察することができる。

de Assis らによつて行われている大量経口接種を検討する目的で行われたわが国での幾つかの報告によれば戸田¹¹⁾、高野¹²⁾は、大量あるいは頻回接種によつて皮下接種に劣らぬ免疫効果をあげうることを認め、また幼若天竺鼠体内におけるBCGの運命を追求した許¹³⁾はH₂₇Rv-R-SMの大量(5mg)経口感染に対してもかなりの程度の免疫効果のあることを述べている¹⁴⁾。

表 5 幼若天竺鼠における人型有毒菌H₂株0.05mg皮下感染後6週目における罹患率ならびに臓器10mg中の感染菌数

経口群	0/0 0/0 0/20 1/370 0/9 0/0.5 0/0 0/0 0/0
対照群	1/110 0/11 0/320 1.5/180 9/190 0/10 10/100

実験成績に述べたように、幼若・成熟2群の天竺鼠にBCG 50mgを経口接種すると、前者では許の成績とほぼ同様の消長を示すが、後者では検出菌数が甚だ少なくなかつ不規則である。興味あることは、接種後時日の経過と共に遠隔の頸部リンパ腺中で相当BCGが増殖する様子が見られる点である。しかしこのBCGが接種当初に腸間膜リンパ腺を介して散布されたものか、直接咽頭粘膜に由来するものかは、この実験では明らかにしえない。BCG接種に当り、後者の可能性を除くために、胃内にゾンデを挿入してBCGを注入したが、ゾンデ抜去に当り菌が咽頭粘膜に付着する可能性を除きえないからである。いずれにもせよ、腸間膜リンパ腺への散布も、遠隔リンパ腺での増殖も、幼若群では成熟群よりも明ら

実験III 有毒菌皮下感染に対する免疫効果

以上の成績から幼若群では静脈内感染をもよく防禦しうる事がわかつたので、感染経路を皮下に変えて免疫効果をしらべた。実験群は経口群、対照群の2群である。

III-a) 経口接種6週後における感染実験

経口接種6週後のツツ反応は6~12(平均7.7)mmで、ツ・アレルギーの発現は甚だ遅い。有毒菌感染剖検所見および臓器内菌数は表4の如くである。経口群にも、肉眼的病変が強かつ臓器からの検出菌数の多いものもあるが、総体的には対照群よりも明らかに罹患率は軽く、かつ菌数も少ない。したがつて、経口接種後ツ・アレルギー発現の不充分な時期でも、皮下感染をある程度防禦しうる事がわかる。

III-b) 経口接種8週後における感染実験

経口接種6週目には6~12(平均7.7)mmのツツ反応であつたが、8週目には8~15(平均11.9)mmとなつた。感染6週後の剖検所見は表5の如くである。感染菌量が実験a)の約1/2であるためか、対照群の罹患率はやや弱

表 4 幼若天竺鼠における人型有毒菌H₂株0.1mg皮下感染後6週目における罹患率ならびに臓器10mg中の感染菌数

経口群	0/11 26/19 30/3 18/120 31/10 4/260 0/0
対照群	20/600 240/4,000 90/3,300 5/12 23/3,800

かに強く、これがツ反応における差異として示されていると思う。

腸間膜リンパ腺へのBCGの散布の差異を、単に腸粘膜の透過性のみに基づき、腸管内到達以前にBCGの蒙るであろう影響も考えなくてはならない。この点については海老名ら¹⁰⁾が、胃液によるBCGの障害の有無を腸溶カプセルを用いて検討している。もし成熟群では、腸管到達以前に菌の死滅が起るということであれば散布菌数の多少についてある程度の説明は可能であろう。いずれにせよ、経口接種された菌数が 10^9 orderであるから、幼若群においてさえも、大部分は直接排泄によつて失われ、吸収利用される菌は極めて少数にすぎないと推察される。

幼若群の頸部リンパ腺内における菌数増加は著明であるが、これは、リンパ腺機能が未熟なために、菌の増殖をある程度まで許し易いことを想像せしめる。かかる菌の増殖の有無が、恐らくは爾後のツ・アレルギーや免疫力の発現に影響を与えるのであろう。

次に有毒菌感染に対する免疫効果をみると、幼若群と成熟群とでは、感染直前のツ・アレルギーの程度に依るかの如く、罹患度や有毒菌の分布に明らかな差異が見られる。BCG接種後感染までの時期や感染菌量に差があるので、両群の成績を直接比較し難いが、50mg 経口接種という条件では、幼若群ではツ・アレルギーは発現し免疫効果も相当程度に見られることは確かである。成熟群でも、感染時期を少し遅らせるか、BCG接種量あるいは接種回数を増すか、あるいは感染菌量を減ずるかすれば、ある程度の効果を認めうるようになるかも知れない。

以上の成績からみると、BCGの経口接種によつて免疫効果を取めるためには甚だ大量のBCGを必要とすること、ならびにその効果は年令の因子によつて著しく影響されることがわかつて思う。

結 論

生後7日以内の天竺鼠と成熟天竺鼠とにそれぞれ1匹宛50mgのBCGをゾンデを用いて経口接種し、体内におけるBCGの消長ならびに一定期間後における免疫効果について調べた。

接種されたBCGの大部分は直接排泄により失われるものの如くで、腸間膜リンパ腺への定着菌数は極めて少ない。その後幼若群では遠隔の頸部リンパ腺内で菌の増殖が見られ、これに相応してツ反応も強く発現する。成熟群では菌の増殖も弱く、ツ反応もほとんど発現しない。臓器におけるBCGの定着は両群共ほとんど見られない。

有毒菌感染を静脈内に行うと、成熟群ではほとんど対照群と差をつけ難いが、幼若群では明らかに対照群より罹患度は軽く、皮下接種群と同程度に感染を防禦しうる。有毒菌皮下感染に対しても幼若群はBCG経口接種によつて防禦効果を示している。

すなわち、BCG 50mg 経口接種によつては、生後間もない天竺鼠においてはツ・アレルギーも感染防禦力もよく発現するが、成熟天竺鼠においては同様の効果を期待することができない。

擧筆に臨み御校閲戴いた柳沢部長に謝意を表する。

文 献

- 室橋豊穂：BCG接種海狸におけるツベルクリン皮内反応消長の年令的差異，児科雑誌，47：1119～1128，1941.
- 西川為雄：BCGワクチン接種乳児の臨床的観察，臨床医学，27：1449～1464，1939.
- 室橋豊穂：BCG経口接種小児に於けるツベルクリン皮内反応について，児科雑誌，49：(7)，1943，52：(1)，15～16，1948.
- 佐竹清・梅谷一郎：BCG菌胃内注入による人型結核菌腸内感染に対する免疫について，結核，7：1049～1072，1929.
- 米沢隆之：BCGを以てせる経口の免疫実験，結核，8：699～709，1930.
- 米沢隆之・梅谷一郎：BCGワクチン頻回嚥下による海狸に於ける免疫について，結核，10：475～484 1932.
- 梅谷一郎・米沢隆之：BCGを頻回経口的に与えたる海狸の病理解剖，結核，10：458～465，1932.
- de Assis, A.: Present status of oral BCG vaccination, Report submitted to the W.H.O. Expert-Committee on vaccination against Tbc., Copenhagen, 1953.
- 許書刀：乳幼児に対するBCG経口接種，結核，30：730～733，1955.
- 海老名・高也・榊原・海老名・工藤・北島：BCGワクチン検定法並びに経口投与に関する研究，結核31(増)：168～169，1956.
- 戸田忠雄・大西敏博・平田妙子：BCG経口投与に関する研究，結核，31(増)：169，1956.
- 高野袈婆男：戸田等に対する追加，同誌，
- 許書刀：新生児モルモットに於ける経口接種後のBCGの運命，結核，31：(3)，155～157，1956.
- 許書刀・蔡秀華：BCG経口接種による免疫効果，結核，31：(12)，707～709，1956.