

BCG 와 牛痘 同時接種時에 일어나는 相關關係에 對하여

第 2 報 BCG 와 VACCINIA VIRUS의 免疫動物과
試驗管內培養細胞에서 일어나는 相關關係

國立保健研究院 微生物部

全 南 昊

慶熙大 醫大 微生物學教室

金 燦 淳

—Abstract—

An Experimental Study of the Effect of Simultaneous Vaccination with B.C.G. and Smallpox Vaccine

Part 2. Experiments in the immunized animals and the rabbit
kidney fibroblast monolayer cell culture

Nam Ho Chun, M.D.

BCG Laboratory, National Institute of Health, Seoul, Korea

Chan Soo Kim, M.D.

Dept. of Microbiology, College of Medicine, Kyung Hee University, Seoul

The objective of BCG and smallpox vaccination is to induce acquired resistance by artificial infection with a harmless form of the tubercle bacillus and vaccinia virus. If applied properly on a large scale, it is the easiest, most economical, most time-saving, and most effective measure to reduce the tuberculosis problem (remembering that there has been no reported case of smallpox since 1958 in this country). However, in this country with a high prevalence of tuberculosis, (3) the effectiveness of BCG vaccination in reducing the incidence of tuberculosis in a population which is susceptible is related to the protective value or potency of the BCG vaccine and to skilled vaccination.

The purpose of in this experimental study is based on following hypothesis: Even with BCG vaccination alone some untoward side reactions may be observed. Therefore, more side-effects would be expected at the vaccination region as well as systemically if the smallpox vaccination is given simultaneously with the BCG vaccination. BCG and Vaccinia virus are all live microbes: therefore, if they interfere with each other inside the human body, impediments to the immunizing process may occur with the pathological view the authors of this study used guinea-pigs, rabbits, and mice: also they tested some

The authors are grateful in this study for support from the Korean National Tuberculosis Association and the Korean Academy of Tuberculosis.

of the monolayer cell culture from the BCG and Vaccinia virus immunized rabbit kidney fibroblast, in order to examine the effect of smallpox and BCG vaccination on the acquisition of immunity against smallpox and tuberculosis.

The result are summarized as follows:

1. The result of pock counts of vaccinia, no normal trend of quantitative culture. Reisolated the vaccinia virus inoculated in the BCG immunized group of rabbits, guinea-pigs and mice.
2. Result of viability count of BCG was irreconcilable trend in quantitative culture. Reisolated the BCG inoculated in the vaccinia immunized group of the rabbits, guinea-pigs and mice.
3. At the necropsy of the BCG and vaccinia virus interchanged inoculation group of BCG and vaccinia virus immunized rabbits, guinea-pigs and mice, no significant difference between the groups was observed in the degree of tuberculous or vaccinal pathogenic signs. However, in most of immunized test groups were observed pathogenic changes in organs: blood-shot, fatty degeneration, lymph gland saturated, and macrophage increased in the lung, liver, spleen, kidney and lymph glands, when compared to the control groups which were within normal limits.
4. Viability count of BCG and vaccinia pocks, decreased number of quantitative culture in both of the test groups. Reisolated the monolayed cell culture of rabbit kidney fibroblast with the immunized rabbit serum tested groups.
5. The test group with immunized rabbit serum showed a decrease in reisolated BCG and vaccinia compared to the test group without immunized rabbit serum. The present investigation seems to suggest the possibility of such from the increase in the local reaction and decrease in the aquisition of immunity, caused by either immune anti-body in the vaccinated human.

1. 緒論

BCG 生菌接種을 動物體에 하면 체일 먼저 Macrophage 의 防禦를 받을 것이며 Vaccinia virus 도 時間의 差는 있으나 接種後 Macrophge 의 防禦를 먼저 받게되며 Macrophage 속에 噛菌된 BCG 菌이나 Vaccinia virus 는 細胞內에서 增殖되어 結局에는 Macrophage 의 變性을 일으키게 된다. 이러한 첫단계 障壁을突破한 菌이나 Virus 는 Regional lymph node, Blood stream 을 거쳐 Spleen, Liver, Lungs 等의 臟器에 到達할 때까지突破하는데 Macrophage 의 防禦를 받고 또 增殖하며 Lysosome 의 酶素들은 細胞를 Iysis 시켜 Virus 나 菌이 感染될 수 있게 하지만 BCG 의 경우는 Lysosome 에 依해서 包圍되어 生存하였다가 다음 增殖段階로 가는 것으로 알고 있다.¹¹⁾ 이와 같이 BCG 菌이나 Vaccinia virus 는 Macrophage 속에서나 動物의 上皮樣細胞內에서 增殖은 각각하고 있는 것을 報告¹⁰⁾ 한 바는 있으나 BCG 와 Vaccinia virus 同時 接種時에 일어나는 相關關係에 對한 報告^{11, 12)} 가 매우 적은 것 같아 著者들은 1969 年度에 報告⁵⁾ 한 第 1 報의 內容과 같이 BCG 와 Vaccinia virus 는 모두 살아있는 菌과 Virus 임으로 人體內에서 干涉作用(Interference)이 일어나서 舊還現象(Rescue)을 반계되면 免疫이 成立되기 어려운 것으로 보고 BCG 와

Vaccinia virus 同時 接種한 實驗動物에서의 相關關係에 對한 實驗 報告를 한 바 있고 第 2 報에서는 免疫動物에서의 細密한 病理學的 實驗과 實驗管內培養細胞에서 BCG 와 Vaccinia virus 의 Macrophage 와 그밖에 細胞培養時의 BCG 와 Vaccinia virus 의 相關關係를 觀察하기 為하여 家兔의 腎臟上皮樣細胞培養을 利用한 實驗의 結果를 報告하는 바이다.

2. 實驗材料

1) 使用動物 : 家兔는 體重 2kg 前後것을 市場에서 구입하여 使用하였고 Guinea-pig 은 體重 300g 前後되는 것을 mouse 는 CFW 系의 體重 15g 前後것을 國立保健研究院에서 飼育한 것을 使用하였다.

2) 使用菌株 : 國立保健研究院에서 배신생산에 使用하고 있는 菌株인 BCG Pasteur 株(以下 BCG 로 略함)와 Vaccinia virus Lot Ib 株(以下 Vaccinia 로 略함)를 規定의 處方에 依하여 精製處理後 使用하였다.

3) 試藥 : 細胞培養에 使用한 199培地는 美國 Nutritional Biochemicals Corporation 製를 使用하였고 11 日 孵化鷄卵과 其他 試藥은 規格品을 使用하였다.

3. 實驗方法

1) 免疫方法

(1) 動物免疫群

ㄱ) 家兔 : 各群을 6匹以上으로 하여 每匹에 生菌 BCG 15mg 를 皮內接種하고 Smallpox vaccine $10^{-5} \times 0.2\text{ml}$ 를 表皮接種하여 3~4週後에 攻擊感染 및 培養試驗에 使用하였다.

ㄴ) Guinea-pig : 家兔群과 同一한 實驗方法으로 動物實驗을 하였고 腎臟細胞培養은 하지 않았다.

ㄷ) Mouse : 各群을 16首以上으로 하여 各首에 BCG 生菌 1mg 를 尾靜脈으로 接種 3~4週後에 攻擊感染 및 再分離培養試驗에 使用하였다. 또한 Smallpox vaccine $10^{-5} \times 0.02\text{ml}$ 을 尾靜脈으로 接種 3~4週에 攻擊感染 및 再分離培養試驗에 使用하였다.

ㄹ) BCG 와 Smallpox vaccine 同時 接種群은 家兔, Guinea-pig 과 mouse 各群에 單獨免疫接種과 同時免疫群을 免疫 3~4週後에 再分離培養試驗에 使用하였다.

2) 相互攻擊實驗方法 :

ㄱ) BCG 免疫家兔, Guinea-pig 및 mouse 에는 Smallpox vaccine 를 免疫할 때와 같이 攻擊接種을 하였고

ㄴ) Smallpox vaccine 免疫家兔, Guinea-pig 및 mouse 에는 BCG 生菌을 免疫할 때와 같이 攻擊接種하였다.

3) 再分離培養方法 : 各實驗動物免疫群에서 攻擊後 3,

5, 7, 10, 및 14日에 mouse 는 每回 2首式 家兔와 Guinea-pig 은 1匹式을剖檢하여 그 臟器를 處理하여 1ml 를 BCG 菌分離를 為해서 5本의 小川培地에 심고 Vaccinia virus 分離를 為해서 5個의 11日부화계란에 10mg 를 接種하여 各群의 再分離試驗을 하였다.

4) BCG 와 Smallpox vaccine 免疫家兔腎臟細胞培養은 BCG 免疫細胞에는 Vaccinia virus 를 Smallpox vaccine 免疫細胞에는 BCG 를相互交替接種한後 3, 5, 7 및 10일의 4回 細胞培養液 1ml 를 그대로 5本의 小川培地에 심어서 4週後에 BCG colony 數를 檢算하였고 5個의 11日부화 계란에 細胞培養液 1ml 를 그대로 0.2ml 式 심고 5日後에 Vaccinia virus pock 數量 各群別로 實驗檢算하였다. 細胞培養液은 199培地에 牛血清을 處方대로 加하였고 家兔免疫血清加 實驗群의 細胞培養液에는 牛血清量만큼의 家兔免疫血清을 加하여 實驗하였다. 家兔腎臟細胞는 BCG 와 Smallpox vaccine 免疫後 4週 또는 5週에 摘出하여 Trypsin 消化法으로 處理後 199培養液으로 培養하였다. 培養細胞는 24時間培養後 199培養液을 가려넣고 BCG 와 Vaccinia virus 를 10^{-4} , 10^{-5} , 및 10^{-6} 으로 稀釋하여 그 液을 0.2ml 式 每瓶에 植菌後 3, 5, 7, 및 10일에 각各 細胞와 培養液을 같이 採取하여 該當日 再分離試驗에 使用하였다.

Table 1. Average number of egg CAM vaccinia pocks isolated in the excised tissues of the experimental animal with BCG immunized and vaccinia inoculated animals.

Tissue	Group of animals	Period after vaccinia inoculated (days)				
		3	5	7	10	14
Blood	G	—	—	2	—	—
	R	—	9	7	—	—
	M	—	—	—	—	—
Spleen	G	—	2	5	—	—
	R	—	6	11	—	—
	M	—	1	2	—	—
Knee-fold	G	3	4	7	9	2
lymph nodes	R	18	41	73	28	4
	M	1	6	4	—	—
Livers	G	—	—	—	—	—
	R	—	—	—	2	—
	M	—	—	—	—	—
Lungs	G	—	2	2	—	—
	R	—	3	—	—	—
	M	—	—	2	—	—

G : Guinea-pig

R : Rabbit

M : Mouse

CAM: Chorioallantoic membrane

5)剖検方法：各動物은 麻醉後 血液을 採取하여 BCG 와 Vaccinia immune-macrophage 를 檢鏡하였다. 各 實驗群은 剖検計劃대로 剖検하여 各臟器의 一部分을 無菌의 으로 攻擊接種한 菌의 再分離用으로 採取後 그 動物의剖檢所見을 記述하면서 觀察하였다.

4) 實驗成績

1) 免疫動物의 菌再分離實驗成績

1) BCG 를 免疫한 家兔, Guinea-pig 및 mouse 群에 Vaccinia virus 를 攻擊接種後 3, 5, 7, 10 및 14日에 各臟器에서 再分離한 Vaccinia virus pock 數는 表 1 과 같아 家兔淋巴腺에서 많이 分離되었고 그밖에 動物의 脏器內에서의 再分離成績은 分離時日에서나 分離菌數가

매우 고르지 못한 結果를 나타냈다.

2) Vaccinia virus 를 免疫한 家兔, Guinea-pig 및 mouse 群에 BCG 를 攻擊接種한 後 그 動物에서의 再分離한 BCG viability unit 是 mouse 接種群에서는 各分離日에서 全部 分離되어 接種後 14日에 가장 많이 分離되었으며 그밖에 動物群에서는 不規則한 再分離成績을 나타냈다(Table 4).

3) BCG 와 Vaccinia virus 를 同時免疫動物群에 대시 BCG 와 Vaccinia virus 를 同時攻撃接種後 3, 5, 7, 10 및 14日에 再分離試驗한 成績은 家兔, Guinea-pig 및 mouse 中 特異抗感受性을 가졌다고 볼 수 있는 것은 Vaccinia virus 는 家兔에서 BCG 는 家兔보다는 Guinea-pig 에서 그리고 BCG 는 Guinea-pig 보다는 mouse 에

Table 2. Average number of egg CAM vaccinia virus pocks on cultivated in the BCG immunized rabbit kidney fibroblast monolayer cells.

Primary vaccinia virus dilution	10 ⁻⁴ (ml.)			10 ⁻⁵			10 ⁻⁶		
	After inoculated days	Appearan- ce of CPE	No. of reisolated pocks	After inoculated days	Appearan- ce of CPE	No. of reisolated pocks	After inoculated days	Appearan- ce of CPE	No. of reisolated pocks
BCG immunized RKFMC	3	+	21	3	+	9	3	+	2
	5	+	20	5	+	11	5	+	3
	7	+	46	7	+	26	7	+	11
	10	+	31	10	+	28	10	+	14
Normal RKFMC	3	+	18	3	+	18	3	+	4
	5	+	23	5	+	11	5	+	3
	7	+	29	7	+	22	7	+	15
	10	+	43	10	+	47	10	+	12

RKFMC: Rabbit Kidney Fibroblast Monolayer Cells.

CPE: Cyto-Pathogenic Effect.

Table 3. Average number of egg CAM vaccinia virus pocks on cultivated in the normal rabbit kidney fibroblast monolayer cells with BCG and vaccinia virus immunized rabbit serum.

Primary vaccinia virus dilution	10 ⁻⁴ (ml.)			10 ⁻⁴			10 ⁻⁶		
	After inoculated days	Appearan- ce of CPE	No. of reisolated pocks	After inoculated days	Appearan- ce of CPE	No. of reisolated pocks	After inoculated days	Appearan- ce of CPE	No. of reisolated pocks
Normal RKFMC with BCG immunized rabbit serum	3	+	9	3	+	6	3	+	2
	5	+	7	5	+	7	5	+	1
	7	+	14	7	+	4	7	+	—
	10	+	10	10	+	—	10	+	—
Normal RKFMC with vaccinia virus immunized rabbit serum	3	+	18	3	+	13	3	+	—
	5	+	11	5	+	11	5	+	—
	7	+	6	7	+	7	7	+	1
	10	+	11	10	+	14	10	+	—

Table 4. Average number of BCG viable colony cultured in the excised tissues of the experimental animal with vaccinia virus immunized and BCG inoculated animals.

Tissues	Group of animals	Period after BCG inoculated (days)				
		3	5	7	10	14
Blood	G	—	—	2	5	—
	R	—	—	—	2	—
	M	—	—	1	2	—
Spleens	G	—	—	—	2	10
	R	—	—	—	—	2
	M	11	16	18	21	128
Knee-fold lymph nodes	G	—	—	70	96	260
	R	—	—	—	4	—
	M	2	2	4	13	11
Livers	G	—	—	—	—	2
	R	—	—	—	—	—
	M	—	—	4	6	—
Lungs	G	—	—	—	2	2
	R	—	—	—	—	5
	M	7	24	41	153	206

Table 5. Average number of BCG viable colonies on cultivated in the vaccinia virus immunized rabbit kidney fibroblast monolayer cells.

Primary BCG dilution	10 ⁻⁴ (ml.)			10 ⁻⁵			10 ⁻⁶		
	After inoculated days	Appearance of CPE	No. of reisolated colony	After inoculated days	Appearance of CPE	No. of reisolated colony	After inoculated days	Appearance of CPE	No. of reisolated colony
Vaccinia virus immunized RKFMC	3	+	31	3	+	4	3	+	—
	5	+	19	5	+	11	5	+	3
	7	+	27	7	+	22	7	+	2
	10	+	14	10	+	15	10	±	—
Normal RKFMC	3	+	34	3	+	14	3	+	2
	5	+	20	5	+	10	5	+	—
	7	+	24	7	+	8	7	+	7
	10	+	12	10	+	15	10	+	4

서感受性이 높은것 같고 각동물의臟器에서는脾臟, 淋巴腺肺臟順으로 많이 分離되었다(Table 7).

2) 細胞培養成績

그) BCG 免疫家兔腎臟細胞에 Vaccinia virus 培養을 한後 再分離한 成績은 Table 2 와 같다. 細胞를 處理하여 199培養液을 넣어 24時間培養後 199培養液을 갈아 넣고 Vaccinia virus 接種後 3日에 10⁻⁴ 에서 21個 10⁻⁵에서 9個 그리고 10⁻⁶에서 2個의 Vaccinia virus pock

이 各稀釋群에서 고루再分離되고 Control group도 大同小異한 成績이었고 이 Vaccinia virus pock 數는 Egg CAM pock titration Table 8의 約半數以下로 보며 이것은 細胞內增殖이 急速度로 안되는 것 같고 Vaccinia virus를 無菌으로 處理하는 동안 없어진 것으로 볼 수 있다. 199培養液을 感染 5日과 7日에 각각 넣고 계속 관찰한 成績은 5日과 7日群에는 高濃度에서 低濃度順位로 가장 많이 고루 再分離되었고 感染 10日群에도

Vaccinia virus 増殖이 잘 되었고 細胞培地의 Cytopathogenic change도 잘 되었다.

1) Vaccinia virus 免疫家兔腎臟細胞에 BCG 培養을 한後의 再分離成績은 Table 5와 같다. 感染後 3日에 再分離된 BCG viable colonies 數는 細胞內에서 分裂增殖된 것으로 믿어지기는 하나 試驗稀釋BCG를 直接 小川培地에 植菌한 成績 Table 9와 類似한 成績을 보였다. 199培養液의 交換等은 各群 모두 同一하게 하였으며 感染 5日과 7日群의 10^{-4} 와 10^{-5} 에서 20餘個였고 10^{-6} 에서는 아주 보이지 않는群도 있고 感染 10日에는 보다 더 적은 數였으며 細胞培地의 Cytopathogenic change도 많지 않았다.

2) BCG 와 Vaccinia virus 免疫家兔血清을 加한 細胞培地에 Vaccinia virus를 感染培養한後 再分離한 成績은 Table 3과 같다. 感染各群細胞의 Cytopathogenic change는 잘되었으나 再分離 Vaccinia virus pocks數는 免疫血清을 加하지 않은 免疫細胞培養群보다 월선 적은 數였고 BCG 免疫血清과 Vaccinia 免疫血清의 큰 差는 볼 수 없는 成績을 나타냈다.

3) BCG 와 Vaccinia virus 免疫家兔血清을 加한 細胞培地에 BCG 를 植菌感染시킨後 再分離한 成績은 Table 6과 같다. Vaccinia virus群과 같이 大體의으로 再分離菌數가 적으며 10^{-6} 稀釋群에서는 거의 分離되지 않았고 10^{-4} 稀釋群에서만 免疫血清을 加하지 않은 免疫細胞培養群과 비슷한 再分離 BCG菌數를 볼 수 있었다. 그러나 各接種稀釋液을 直接 小川培地에 또는 Egg CAM에 植菌한 BCG 나 Vaccinia virus의 確認試驗은 正常值였다.

3) 剖檢所見

Table 6. Average number of BCG viable colony on cultivated in the normal rabbit kidney fibroblast monolayer cells with vaccinia virus and BCG immunized rabbit serum.

Primary BCG dilution	$10^{-4}(\text{ml.})$			10^{-5}			10^{-6}		
	After inoculated days	Appeari- ance of CPE	No. of reisolated colony	After inoculated days	Appeari- ance of CPE	No. of reisolated colony	After inoculated days	Appeari- ance of CPE	No. of reisolated colony
Normal RKFMC with vaccinia immunized rabbit serum	3	+	31	3	+	11	3	+	-
	5	+	23	5	+	7	5	+	2
	7	+	28	7	+	9	7	+	-
	10	+	19	10	+	4	10	+	-
Normal RKFMC with BCG immunized rabbit serum	3	+	21	3	+	1	3	+	-
	5	+	26	5	+	3	5	+	-
	7	+	29	7	+	-	7	+	-
	10	+	14	10	+	-	10	+	-

BCG 와 Vaccinia virus를 각각 免疫後 相互交替攻擊한 實驗群과 BCG 와 Vaccinia virus 同時接種한 家兔, Guinea-pig 과 mouse의 實驗群에서 特異性 差量 發見할 수 없었다.

1) Guinea-pig 實驗群

大網膜 및 腹膜: 大網은 小指大로 肥厚硬結하고 大小의 塊瘤를 形成하고 그中에 黃白色 乾酪樣物質을 볼 수 있었다.

脾臟: 各 實驗群에서 粟粒大의 灰白色結節樣斑點을 散見할 수 있었다.

肝臟: 表面被膜及 肝實質에 粟粒大의 帶黃白色的 結節樣斑點을 볼 수 있었다.

脾臟: 表面被膜에 結節樣斑點을 散見하고 輕度의 出血과 肥大가 오고 灰白色結節樣斑點을 볼 수 있고一般的으로 脾臟은 若干 커진 듯 하였다.

腎臟: 顯著한 變化는 없었다.

淋巴腺: 腸間淋巴腺, 鼠蹊部淋巴腺의 輕度의 肿脹이 있을 뿐 他淋巴腺에는 特記할만한 變化가 없었다.

2) 家兔 實驗群

大網膜 및 腹膜: 大體로 Guinea-pig 實驗群의剖檢所見과 같은 變化를 볼 수 있었으나 灰白色結節病變은 월선 輕微하였다고 인정된다.

肺臟: 肺表面被膜과 肺實質에 米粒大의 黃灰色結節을 볼 수 있었다.

肝臟: 表面被膜及 肝實質에 粟粒大의 黃白色的 結節 같은 것을 볼 수 있었다.

脾臟: 顯著한 變化가 없었다.

腎臟: 著明한 變化하고 正常이었다.

淋巴腺: 腸間膜淋巴腺이 米粒大로 肿脹하고 他淋巴腺

Table 7. Average number of BCG viable colony and vaccinia virus pocks reisolated in the excised tissues of the BCG and smallpox vaccine inoculated simultaneously in the experimental animals.

Animal groups		After inoculated days	Blood	Spleens	Knee-folds lymph nodes	Livers	Lungs
BCG vaccine inoculated and reisolated	G	3	—	—	—	—	—
		5	—	—	—	—	—
		7	3	—	22	—	—
		10	5	2	36	—	2
		14	—	4	121	—	3
	R	3	—	—	—	—	—
		5	—	—	—	—	—
		7	—	—	—	—	—
		10	2	—	5	—	2
		14	—	4	—	—	—
	M	3	—	2	—	—	—
		5	—	6	4	—	4
		7	—	9	7	—	3
		10	—	8	6	2	12
		14	—	21	11	—	14
Smallpox vaccine inoculated and reisolated	G	3	—	—	—	—	—
		5	—	1	6	—	—
		7	—	3	3	—	—
		10	—	—	4	—	3
		14	—	—	2	—	—
	R	3	—	—	4	—	—
		5	—	1	18	—	—
		7	3	4	41	2	4
		10	1	—	176	—	2
		14	—	6	32	—	—
	M	3	—	—	—	—	—
		5	—	—	11	—	—
		7	—	4	16	—	4
		10	—	—	—	—	—
		14	—	—	—	—	—

Table 8. NIH assay results of the smallpox vaccine average pocks in the egg CAM and rabbit cutaneous titration in 1971

Dilution of vaccine/ml.	Egg CAM						Rabbit cutaneous				
	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}	10^{-10}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
Lot No.											
7101	Numerous pocks, unreadables		8	—	Numerous pocks, unreadables		—	4	2	—	—
7102	" "		10	1	" "		—	5	1	—	—
7103	" "		9	—	" "		—	3	1	—	—
7104	" "		9	—	" "		—	8	2	—	—

NIH: National Institute of Health, Seoul, Korea

Table 9. NIH assay results of the BCG average viability counts at harvest in the Ogawa medium.

Dilution of BCG vaccine Lot No.	10^{-4} (ml)	10^{-5}	10^{-6}
496	29	21	9
497	28	12	16
498	36	26	18
499	42	17	8
500	18	22	23
501	35	25	18
502	26	15	13
503	32	24	9
504	18	18	13
505	24	34	4

은正常인것 같았다.

二) mouse 實驗群

Guinea-pig 과 家兔實驗群에 比하여 各臟器에서의 結節의 殘存과 消失된 혼적을 볼수있고 泡抹細胞로된 結節形成等이 있었으나 病變은 終熄된 것으로 보였다.

大網膜及 腹膜：若干肥厚한 둋하고 橫隔膜下에 黃白色結節이 證明되었다.

肺臟：肺表面被膜 및 實質에 粟粒大의

肝臟：肝實質에 粒粒大의 灰白色結節을 볼수 있었다.

脾臟：輕하게 肥大하고 細胞脾臟間의 區別이 鮮明치 않았다.

腎臟：細尿管의 輕한 變性이 있을 뿐이고 그外는 正常으로 보였다.

淋巴腺：腸間膜淋巴腺이 粟粒大로 肿脹하고 他淋巴腺은 正常인것 같았다.

4) 顯微鏡的所見

BCG 와 Vaccinia virus를 각각免疫後相互交替攻擊接種群과 BCG 와 Vaccinia virus를 同時接種한 家兔, Guinea-pig 과 mouse 等의 實驗群間에서 特異한 差를 發見할 수 없었고 mouse 實驗群에서는 結節形成後 病變이 終熄된 것 같았다. 各實驗動物의 Macrophage 確認은 剖檢前에 麻醉를 시킨後 血液을 採取하여 標本에서 보고 剖檢後 各臟器內의 血液에서도 Macrophage 를 確認하였으나 BCG 와 Vaccinia viius의 Immune-macro-

phage(10)에 對한 細密한 實驗은 다음 研究에서 다루겠다.

二) Guinea-pig 實驗群

肺臟：大體의 으로 充血이 強하고 氣管枝周圍의 血管周圍에 細胞浸潤을 볼수 있고 여기에는 類上皮細胞淋巴球 白血球와 Langhans 氏巨大細胞를 볼수있고 非定型의 인 肺胞上皮의 增殖을 보였다.

肝臟：一般的으로 充血이 있고 肝細胞는 脂肪變性이 되고 Glisson 氏鞘 및 小葉內 여러곳에 類上皮細胞와 Langhans 氏巨大細胞와 淋巴球가 浸潤되어 있었다.

脾臟：充血이 되고 細胞가 增加되고 大量은 浸潤으로 細胞 및 脾髓의 區別이 困難하였다.

腎臟：絲球體의 荒廢 및 細尿管의 輕한 空胞變性以外에 特記할 變化는 없다.

淋巴腺：腸間膜과 腹膜淋巴腺은 類上皮細胞가 浸潤된 혼적을 볼 수 있으며 一部에는 濫蔓性인 浸潤을 보였다.

三) 家兔實驗群

肺臟：氣管枝周圍에 浸潤되었는 細胞의 혼적이 있고 類上皮細胞 lymphocyte 白血球와 Langhans 氏巨大細胞를 볼 수 있었다.

肝臟：肝細胞의 脂肪變性이 되었고 Glisson 氏鞘中心으로 結締組織의 增殖을 보였다.

脾臟：充血이 있고 細胞의 輕한 肥大增殖을 보이고 輕한 乾酪性의 혼적을 가진 類上皮細胞浸潤을 볼 수 있었다.

腎臟：顯著한 變化를 볼 수 없었다.

淋巴腺：腸間膜과 腹膜淋巴腺은 類上皮細胞의 浸潤을 받은것 같았다.

四) mouse 實驗群

Mice 實驗群의 所見은 Guinea-pig 實驗群과 大同小異하였다.

5. 考 察

結核菌을 家兔나 Guinea-pig 의 皮下에 兔疫接種한 2日後에 淋巴結節에서 分離하여 그 動物들의 腹腔單細胞試驗管內培養을 하면 增殖이 되나 BCG 는 兔疫動物의 腹腔單細胞試驗管內培養에서는 增殖이 안된다고 Suter 는 報告한 바 있고 遠藤는 mouse 腹腔內에 結核菌이 感染된後 5~7日 사이가 많이 增殖하고 그後는 減退되었고 BCG 兔疫 Mice 腹腔內에 結核菌을 感染시켜 5日後 腹腔漿細胞의 伸展標本에서 極히 大量은 多核白血球를 보았다고 한다.¹⁰⁾ 또한 金井은 生菌免疫을 받는 動物體는 菌이 感染될 때와 같이 最初의 局所反應을 하는것이 好

中球이고 그 다음에 Macrophage 大單核細胞等 類上皮細胞性 肉芽生成細胞, 多形核白血球, 淋巴球속에 大部分의 菌이 있으나 細胞밖에도 있게되며 菌은 이러한 Macrophage에 쌓인 채 20~30일이 지나면 增殖이 減退된 듯하여 BCG 生菌을 動物에 接種한 후 24시간이면 多形核白血球속에서 确認할 수 있고 3일에는 多形核白血球속에서 死菌이나 生菌을 같이 确認할 수 있다 5일에 Macrophage에 完全히 쌓이게 된다. 그다음 14일이 되면 多形核白血球속에서는 菌을 볼 수 없고 Macrophage에서만 菌을 볼 수 있고 菌體는 위축이 된듯이 보인다고 하였다. 著者等은 生菌免疫機轉의 基礎위에서 近來 WHO에서 推薦하는 BCC 와 牛痘를 同時接種할 때 動物體內에서 일어나는 免疫過程을 觀察하려고 BCG를 免疫시킨 家兔 Guinea-pig 과 mouse에 Vaccinia virus를 攻擊하고 Vaccinia virus를 免疫한 動物에 BCG를 接種하고 BCG 와 Vaccinia varus를 同時接種한 動物實驗과 BCG를 家兔에 免疫한 다음 그 家兔腎臟細胞의 試驗管內培養細胞에 Vaccinia virus를 그리고 Vaccinia virus를 免疫한 家兔腎臟細胞의 試驗管內培養細胞에 BCG를 接種하여 觀察하였다. 그다음 家兔와 Guinea-pig의 BCG 接種量 15mg는 最低 0.05mg의 人體接種量의 300倍이며 0.1mg의 普通實驗接種量의 150倍의 接種은 病理所見을 細密히 觀察함을 目的으로 하였고 나가서는 生物學의 安全性을 確認하는 統計學의 根據에 둔 것임을 附記하여 單純人體接種量 0.05~0.1mg로 副作用이 오는 例도 있고 進行性結核을 惡化시키는 것으로 미루워 實驗動物과 人體는 각각 그 免疫感受性이 別異한 것을 本實驗에서도 實驗結果로 알 수 있었다.

Vaccinia virus의 再分離는 家兔에서 가장 잘 되었고 BCG 再分離는 mouse에서 잘되는 것은 그 動物이 他動物보다 感受性이 높은 것을 알 수 있고 再分離成績이一定한 推移는 알 수 없으나 적어도 Vaccinia virus나 BCG가 動物體內에서 서로 增殖抑制를 하지 않는다는 것을 立證하여 주고 있다. 水之江等은 BCG를 免疫시킨 Guinea-pig 과 家兔의 腹腔內細胞에서 強毒結核菌이나 BCG도 增殖이 阻止되었으나 Predonin으로 實驗한結果에서는 增殖이 된다고 報告하였다. 그러나 Lurie는 免疫血清이 細胞內에서의 菌增殖을 阻止한다고 하고 Suter는 菌增殖은 免疫血清의 有無와는 關係가 없다고 하였다. 著者等의 實驗結果는 BCG 菌을 免疫動物의 腹腔內細胞에 接種시킨 후 病理變化는 正常動物과는 差가 있었으나 BCG 菌을 接種再分離하거나 BCG 와 Vaccinia virus 免疫動物의 腎臟細胞에 BCG 와 Vaccinia virus를 각각 交換하여 細胞培養한 것은 菌增殖에서는 兩群

같이 同一하였고 對照群인 正常家兔의 細胞培養群도 거이 同一한 結果를 얻었다. 그러나 BCG 免疫血清을 加한 細胞培養에서 BCG 菌의 增殖의 抑制를 받았고 Vaccinia virus 免疫血清을 加한 細胞培養에서도 Vaccinia virus의 增殖抑制를 確認하였다. 이것은 免疫血清이 感染을 防禦하거나 感染後 中和役活을 하고 있다는 從來의 理論이나 發表成績(6)과도 一致되느니만큼 將次牛痘와 BCG를 同時 接種할 接種群의 選擇에도 參考할 値がある다고 主張하고 싶다.

著者等의 意見으로는 1次 BCG나 牛痘를 맞은 사람에게는 BCG 와 牛痘同時接種을 하지 않는 것이 좋을 것 이지만 現在政府가 하고 있는 5歲未滿小兒의 BCG 와 牛痘同時接種方法은 人體內에서의 免疫機轉은 앞으로 實驗을 하여야 알 수 있겠으나 本動物實驗에서는 何等의 免疫抑制나 相互干渉作用이 없었음을 確認하였다.

6. 結論

- 1) BCG를 家兔, Guinea-pig 과 mouse에 免疫한 後 牛痘를 接種하고 그 再分離 Vaccinia virus의 定量培養成績은 一定한 推移를 認定할 수 有었다.
- 2) 牛痘를 家兔, Guinea-pig 과 mouse에 接種하여 免疫한 後 BCG를 接種하고 그 BCG의 再分離 試驗의 定量培養成績도 一定한 推移를 判定하기 어려웠다.
- 3) BCG 와 牛痘를 相互交替接種한 家兔 Guinea-pig 과 mouse의 肺臟, 肝臟, 脾臟, 腎臟 및 淋巴腺의剖檢所見은 모一隻 動物實驗群에서 特異한 病理變化를 일으키지 않았으나 對照群인 正常動物에 比해 充血 脂肪質變性淋巴腺浸潤과 細胞增加 等의 病理的所見은 볼 수 有었다.
- 4) 免疫家兔血清을 加한 細胞培養에서 再分離한 BCG 와 Vaccinia virus는 血清을 加하지 않은 細胞培養에 比해 적은 再分離數值을 얻을 수 有었다.

<本實驗의 研究費를 補助하여주신 大韓結核協會와 大韓結核學會에 感謝 드립니다.>

参考文獻

1. Lin, H. T.: A study of the effect of simultaneous vaccination with BCG and Smallpox vaccine in new born infants. Bull., WHO 33, 321-336, (1965).
2. Kawasaki, J.: Study on simultaneous and mixed vaccinations with BCG and Smallpox vaccines. Jap., J. TB, vol. 7 No. 2-4, (1959).
3. K. N. T. A.: Report on the 2nd TB, prevalence

- survey in Korea (1970).
4. 徐仁銘外: BCG 病原性에 關한 實驗的考察 中央防
疫研究所報 第2卷 第1號 (1953).
 5. 全南昊, 金燦洙: BCG 와 牛痘同時接種時에 일어나
는 相關關係에 對하여 결핵 및 호흡기질환 Vol. 16
No. 3 (1969).
 6. 水之江公英外: BCG 免疫動物細胞と 結核菌との 相
互作用 日本細菌學會, 生菌免疫の機序 (1962).
 7. 全南昊: 胎牛와 雞胎組織細胞培養을 利用한 痢菌生
產의 檢討, 國立防疫研究所報 第5卷 第1號 (1962).
 8. 이상용: Interferon에 對하여, 감염 3권 1호 (1971).
 9. Maeda et al: *Studies of Herpes Zoster virus In-
vitro, Biken J., Japan, Vol. 12, No. 4 (1969).*
 10. Sula, L. et al: *Studies with the light microscope
and electron microscope of lung macrophage in
rabbits inoculated with an attenuated strain of
mycobacterium microti Bull. WHO 43, 853-857,
(1970).*
 11. Kanai, K.: *The mechanism of sensitization and
resistance in TB infection with particular refer-
ence to the involvement of lysosomal system. J. of
KEKKAKU, Japan, 7, 462 (1971).*
 12. U. S. Department of Health, Education and
Welfare, Public Health service: *Biological prod-
ucts Regulation title 42 part 73, Publication No.
437 (1969).*