

白血球ニ貪喰セラレタル結核菌ノ増殖ニ就イテ

大阪醫科大學肺癆科教室(主任今村荒男教授)

高 橋 三 千 彦

芦 村 隆 造

緒 言

著者ノ一人芦村ハ白血球ノ貪菌作用ガ結核菌ノ病原性ニ及ボス影響ヲ究メントシテ、被貪結核菌ヲ以テ種々ナル實驗ヲ行ヒ其結果ハ既ニ報告シタ所デアル。

白血球ガ結核菌ヲ攝取シタル場合ニ他ノ細菌又ハ異物ニ於ケル如ク無害者トナス爲ニ繞圍包埋スル事ハ一ツ機能ト做スモ、包埋セラレタル結核菌ガ果シテ其毒力ヲ減削セラル、モノナルカ其生活力ヲ減弱セラル、モノナルカ判明シナイ處デアル、アル細菌ハ貪喰セラレテ後尙生活力ヲ保有スルコトハ從來觀察セラレタ處デアツテ、モシ結核菌ガ生活力ヲ障礙セラル、事ナク、又毒力ヲ毫モ減弱セラレナイトスレバ結核菌ヲ包含スル白血球ハ後來病原トシテ遊離結核菌トハ別箇ノ意義ヲナス場合アルベキ筈デアル。

培養結核菌ト組織内ニ生活スル結核菌トノ間ニ其毒力差異アルコトヲモ唱フル者ガアル。一度細胞内ニ這入ツタ結核菌ハ生活ノ要約ノ變化ニ伴ツテ抵抗力ニ變化ヲ生ズルヤトイフ事モ興味アル問題デアル。是等芦村ガ前記ノ實驗ニヨリテ解決セントシタ問題ノ一デアル。余等ハ先ヅ白血球ノ貪菌作用ガ結核菌ノ増殖力ニ如何ニ影響スルカノ問題ヲ實驗的ニ研究シ、結核菌ハ貪菌ニヨリテ生活力ニ變化ヲ被ルヤ否ヤヲ視ハントシタ。豫メ芦村ノ行ヘル方法ニヨリ海狸腹腔内デ多核白血球ニ貪喰セラレタル状態ニアル結核菌ヲ集メテ之ヲ種々ナル培養基上ニ塗布シテ培養シ、遊離結核菌ヲ塗布シタモノト比較觀察シタ。然ルニ貪結核白血球浮游液ヲ塗布シタ培養基ニ於テモ遊離結核菌ヲ塗布シタ場合ト同様ニ、

著明ノ菌苔ヲ生ズル事ヲ知ツタ。此ノ事デ白血球ニ貪喰セラレタ結核菌モ生活力ヲ保有シテ長時日ノ後ニハ發育増殖スル事ヲ知ル譯デアルガ、一々ノ細胞ニツキテ比較的新ラシイ時期ヨリ時間的經過ヲ逐ヒテ精細ニ觀察スル爲メニ次ギノ如キ實驗ヲ行ツタ。

Wright ガ結核菌培養ニ用ヒタル slide cell culture 法ヲ用ヒテ佐藤ハ海狸其他ノ動物全血液中ニ結核菌ヲ培養シ、健常海狸ノ全血液内ニ結核菌ハ迅速ニ増殖シテ固有ノ聚落ヲ形成シ、結核免疫ノ發生ト共ニ動物全血液ニ増殖阻止的ニ働ク作用アル事ヲ發表シタ。高橋ハ該方法ヲ用ヒテ實扶的里菌ノ免疫ニ關スル實驗ヲ行ヒ、更ニ操作ヲ簡便ニスル事ヲ考案シタ。此ノ方法ニ依レバ或ル細菌ノ箇々ノ發育増殖ノ狀態ヲ時間的ニ順序ヲ逐ヒテ觀察スルニ便利デアル。眞柄ハ此方法ヲ「チフス」菌、赤痢菌、肺炎菌等ニ用ヒテ免疫學的研究ヲ行ツタ。余等ハ此ノ方法ニヨリテ、結核菌ノ白血球ニヨツテ貪喰セラレタモノト貪喰セラレナイ結核菌トヲ血液内ニ培養シテ其増殖ノ差異ヲ時間的ニ顯微鏡下ニ觀察シテ、兩者ノ繁殖力ノ差ヲ比較シタ。次デ健常動物ノ白血球ト結核菌動物ノ白血球トノ間ニ作用ヲ異ニスル點アリヤヲ觀察シタ。

實驗方法

一、人型結核菌ノ「ブイヨン」培養一ヶ月ノモノ一坵中ニ一坵ヲ含有スルヤウニ乳鉢ニテ浮游液ヲ製ス。

二、健常海狸(體重約二五〇瓦)及ビ結核罹患海狸(人型結核菌百分ノ一坵皮下注射後一ヶ月)ノ腹腔内ニ「ブイヨン」二〇坵ヲ注射後六乃至七時間後ニ結核菌液一〇坵ヲ腹腔内ニ注射シ二時間ヲ經テ套管針ニヨリテ腹腔液ヲ採取シ一〇坵ニ對シテ一坵ノ割ニ二%枸橼酸曹達ヲ加ヘ、其一〇坵ヲ輕ク遠心シテ貪喰セラレザル結核菌ト白血球トヲ分離スルコトニ回、次イデ強ク遠心シテ喰結核菌白血球(多核白血球ノ多數、單核白血球ノ少數)ヲ集ム。之ノ沈澱ニ約五倍量ノ生理的食鹽水ヲ加ヘテ浮游セシメタモノヲ培養ニ使用ス。

三、對照トシテ培養ニ使用スル結核菌ハ一坵中ニ一坵ヲ有スル食鹽水浮游液デ輕ク遠心シテ凝塊トナツタ結核菌ヲ去ツテ遊離ノ結核菌ノミヨリナル浮游液ヲ作ル。

四、培養法ハ健常又ハ結核海狸ノ心臟穿刺ニヨリテ〇・五坵ノ全血液ヲ取り、之レニ喰菌白血球浮游液又ハ菌浮游液一滴

ヲ加ヘテ混合ス。此ノ混合液ヲ豫メ準備セル兩端ニ幅一耗、厚サ〇・〇八耗ヲ有スル紙ヲハツタ、載物硝子上ニ三分ノ一耗注射針カラ一滴ヲ落シテ凝固ニ先チテ他ノ載物硝子ヲ以テ被蓋スル。然ル時ハ血液ハ約圓形ヲナシテ兩硝子間ニ薄層ヲ造ル此處ニ於テ其周縁ヲ「バラフィン」ヲ以テ封鎖スルモノトス。

之ヲ攝氏三十七度ノ孵卵器内ニ培養ス。血液凝固後兩硝子ヲ剝ガス時ニハ必ず上ノ硝子ニ纖維素カラナル圓形ノ薄層ヲ附著スル。之レヲ一%ノ「フォルマリン」液ニテ數時間固定シ水洗シテ血色素ヲ去リ乾燥シテ、チール氏液及ビ「メチレン」青染色ヲ施シテ顯微鏡検査ヲ行フモノトス。

此ノ場合ニ對照トシテハ白血球浮游液ノ塗抹標本、血液ト喰菌白血球浮游液ヲ加ヘタルノミニテ培養ヲ行ハザルモノヲ固定シタ標本ヲ各ノ場合ニ作ツテ、白血球ノ喰菌狀態、標本中ニ結核菌ノ分布ノ狀態等ヲ見ル事ガ必要デアル。

實驗成績

一、健常海獺白血球ニ貪喰セラレタル結核菌ノ培養。

培養前ニ固定シタ對照標本ニ於テ主トシ多核白血球ニ貪喰セラレタ結核菌ハ白血球一箇中ニ多イモノハ五、六ヶ少イモノハ一、二ヶ宛ヲ有シ、加ヘラレタ培養血液ノ白血球ヲ合算シテ其約三〇乃至四〇%ガ喰菌シテ居ツテ、遊離シタ菌又ハ數ヶ月以上菌塊ヲナスモノハ殆ンド認めナイ。結核菌浮游液ト血液ヲ加ヘタ對照標本デハ著シイ喰菌ハ認めラレナイ。結核菌ハ個々ニ分レテ集團ヲナスモノハナイ。

此ヲ三七度ニ培養シテ其翌日ヨリ毎日固定染色標本ヲ作ツテ觀察スルト約七日後ヨリ結核菌ハ發育増殖ヲ始メテ拾貳日後ニ最も著明ニナルガ其後ノ増殖ハ遅々トシテ何時マデモ増殖ハ續カナイ。此ノ實驗デハ最終ヲ十二日トシテ固定染色標本ヲ作ツテ顯微鏡検査ヲ行ツタ。其成績ハ表第一實驗ニ示シタヤウニ白血球浮游液ト其二倍稀釋ノモノト二様ニ用ヒタ。健常海獺白血球ニ貪喰セラレタ結核菌ハ原液ヲ用ヒテ健常海獺ノ全血液デ培養シタルモノデハ約七日後カラ白血球内ノ結核菌ハ増殖ヲ始メタ。増殖ノ最初ニハ菌ハ二三箇集マツテV又ハX字形ヲナシテ居ルガ漸次菌數ガ増加スルト、星芒狀ニナル、次イデ防錘狀トカ芒狀ニ長突起ガ一方バカリニ出テ固有ノ束狀ノ美シイ集落ヲ作ル、集落ガ大キク

ナルト白血球ノ體外ニハミ出シテ其長イ突起ヲ出シテ來ル。培養十二日目ニ於テ増殖旺盛ナモノハ白血球ノ直径ノ數倍ノ大サノ聚落ヲ形成スルモノガアル。此ノ時喰菌セル白血球夫レ自體ハ原形質崩壞ニ陥ルモノ多ク、核ハ色素ヲ取ル事少ナク、中ニハ顆粒狀ニ濃染スルモノアレドモ、尙十分ニ形態ヲ存シテ時ニハ新鮮ナルモノニ近イ染色ヲ呈スルモノモアル。而シテ之ヲ結核菌液ヲ健常海猿全血液ニ加ヘテ培養シタ場合ト増殖ノ速度及ビ集落ノ形狀等ヲ比較スルト、略ク同一ノ速度、テ増菌シ集落ノ大イサ形狀ニ於テモ格段ナ差異ハナイ。二分ノ一稀釋喰菌白血球浮游液ヲ用ヒテ培養セルモノハ原液ノ場合ニ較ベテ増殖旺盛ナラズ、大ナル集落ヲ形成スルモノ少ナシ。

次ギニ健常海猿白血球喰結核菌ヲ結核海猿全血液中ニ培養シタ場合ニ於テハ七日目ヨリ僅カニ菌數ノ増加ヲ示シテ來ル。即チ星芒狀ニ數個ノ菌カラナル集落ヲ形成スルガ著シク小ニシテ白血球體外ニ出テ居ルモノガ少イ。此ノ場合ニ二分ノ一稀釋液ヲ用ヒタ場合ニ於テハ殆ンド増殖ヲ認メナイ。

此レノ對照トシテ結核菌液ノミヲ結核海猿全血液ニ培養シタモノニツキテ見ルト、原液ヲ加ヘタモノハ僅カニ増殖ヲ認メ、二分ノ一稀釋ノモノハ増殖ヲ認メズ。

第二實驗ニ於テ原液ノミヲ用ヒタ成績ニ於テハ略ク前實驗ト同様ノ結果ニシテ唯結核海猿全血液ヲ用ヒタル場合ニ少シク増殖旺盛ナルコトヲ見タ。

二、結核海猿白血球ニ喰喰セラレタル結核菌ノ培養

結核罹患動物ノ白血球ニハ結核菌ヲ喰喰スル事ニ於テ健常動物ニ比較シテ既ニ量ノニモ差異ガアル、從ツテ結核動物ノ白血球ニヨリテ喰セラレタル結核菌ハ健常動物白血球ニ攝取セラレタルモノニ比シテ全血液内培養ニ於テ増殖ニ差異ヲ示スヤ、即チ白血球ノ喰菌作用ニヨリテ結核菌ノ被ル影響ニ差異アルカラ知ラントシタ。先ヅ培養セザル對照標本ニ就テ見ルニ結核海猿ノ腹腔内ニテ白血球ハ結核菌ヲ攝取スル事菌數ニ於テハ稍ク少ナク細胞數ニ於テハ健康海猿ト大差ハナイ。

表ニ示スヤウニ結核海猿ノ白血球ニ喰喰セラレタ結核菌ハ健常海猿血液内ニ培養スレバ、健常白血球ニ喰喰セラレタ菌

培養ニ用ヒタル菌液	培養ニ用ヒタル全血液		健康血液	海猿血液	結核血液	備考
	原液	稀釋液	+	+	+	
第一實驗 健康海猿(No. 1)白血球貪喰結核菌	原液	稀釋液	+	+	+	一十 著明ニ大ナル菌集落ヲ形成シ増殖顯著ナルモノハ増殖少ナケレドモ明カニ集落ヲ形成シ増殖十ク以下ニシテ増殖著明ナラザル菌集團ヲナスモノノ散在シテ増殖ヲ示ササルモノ
	原液	稀釋液	+	+	+	
第二實驗 健康海猿(No. 2)白血球貪喰結核菌	原液	稀釋液	+	+	+	
	原液	稀釋液	+	+	+	
第三實驗 健康海猿(No. 3)白血球貪喰結核菌	原液	稀釋液	+	+	+	
	原液	稀釋液	+	+	+	
	原液	稀釋液	+	+	+	
	原液	稀釋液	+	+	+	
第四實驗 健康海猿(No. 4)白血球貪喰結核菌	原液	稀釋液	+	+	+	
	原液	稀釋液	+	+	+	

ニ比較シテ稍々増殖ガ少ナイ、二分ノ一稀釋喰菌白血球浮游液ヲ用ヒタモノハ原液ヲ用ヒタ時ヨリモ更ニ増殖ガ少ナイ。

對照トシテ培養シタ結核菌浮游液ノ健康海猿血液培養デハ結核菌ハ増殖顯著デ第一、第二實驗ノモノト同様デアル。

次ギニ結核海猿血液ヲ用ヒテ培養セル場合ヲ見レバ菌浮游液ヲ培養シタ場合トトモニ結核海猿白血球ニ貪喰セラレタ結核菌ハ著明ナ増殖ヲ示サナイデ僅ニ數ケ内外ノ菌群ヲ作ルカ又ハ全然集落ヲ作ラナイデ個々ニ散在スル菌ヲ見ルノミデアル。

第四實驗デハ第三實驗ト同様ナコトヲ繰返シテ行ツタガ略々同様ノ成績デアル。

實驗總括

以上ノ成績ヲ概括スレバ健康海猿ノ腹腔内ニ於テ主トシテ多核白血球ニヨリテ貪喰セラレタル結核菌ハ余等ノ方法ニヨツテ培養スルト健康海猿全血液中デハ七日ヨリ増殖ヲ始メ十二日後ニ於テ著明ニ發育増殖シテ固有ノ菌聚落ヲ形成シテ漸ク壊死崩壊ニ傾ケル白血球ノ體內ヨリ外ニ突起ヲ造リ旺盛ナル増菌ヲナス事ヲ認メタリ。然シテ此増殖ヲ白血球ニヨリ貪喰セラレナイ結核菌ヲ用ヒタ場合ト比較スルニ著シイ差異ヲ示サナイ。

依ツテ健康海猿白血球ハ其貪喰セル結核菌ニ對シテハ増殖阻止的ニ作用スル事ヲ證明スル事ハ出來ナイ。然ルニ培養基トシテ結核海猿血液ヲ以テセル場合ニハ貪喰セラレナイ結核菌ト略々同一程度ニ増殖ヲ阻止セラル事アルヲ認メタ。故ニ結核海猿全血液ハ貪喰セラレタ結核菌ノ培養ノ際ニモ多少増殖阻止的ニ作用スルヲ知ル、次ギニ結核海

猴ノ白血球ニヨツテ喰喰セラレタ、結核菌ヲ健常海猴血液ニ培養スル場合ニハ健常白血球ノ喰菌セル場合ニ比シテ増殖ノ程度少ナケレ共一定時間後ニ發育増殖スル事ヲ認メタ。而シテ結核海猴血液ヲ用ヒテ培養セル場合ニハ其増殖ハ最も少ナイ。

依ツテ結核動物ノ白血球ノ喰菌ニヨツテ多少ハ増殖ヲ抑制セラル、ヤウデアル。

是等ノ實驗ニヨツテ考察スルト余等ノ方法ニヨツテハ喰菌シタ白血球ハ之レヲ全血液中ニ持チ來ル前後ニ於テ既ニ死滅シテ七日乃至十二日後ノヤウナ長時間ヲ經ルト變性崩壊ニ陥ルベキハ明カデアルカラ、直ニ之ヲ生體內ニ於ケル白血球ノ生活状態ニ於ケル喰菌作用ト比較スルコトハ出來ナイコトハ勿論デアルガ、一度喰菌ニヨツテ白血球體內ニ這入ツタ結核菌ガ喰菌セラレナイ結核菌ト全ク同一速度デ増殖シテ比較的短時間後ヨリ分裂ヲ始メ増殖スル事ハ白血球ノ喰菌ナルモノガ結核菌デハ生活能力、繁殖力ニ實驗ニ要シタ時間内デハ毫モ影響ヲ與ヘナイトイフ事ヲ證明シ得ル。

然シテ健常動物ト結核動物トノ間ニ多少ノ程度ノ差異ヲ示スガ等シク此ノ事實ガアルコトヲ證明シタ、尙結核動物白血球ニハ多少ノ増殖抑制ヲナス作用ガアルヤウデアルガコレハ尙實驗ヲ重テナケレバナラヌ問題デアル。

要スルニ此「スライドセル、カルチュア」ノ方法ヲ以テ被喰結核菌ヲ培養スレバ結核菌ガヨク増殖スル故ニ喰菌ニヨル結核菌ノ増殖、阻止或ハ死滅ヲ證明スル事ハ出來ナイ此培養法ニ於テ白血球ハ何時迄生存スルカラ知リ能ハヌ故ニ此實驗ヲ以テ生體內ニ於ケル被喰結核菌ノ運命ト全然一致スルトハ云ヒ得ナイガ青村ノ實驗結果カラ押シテモ結核菌ニ對スル喰菌作用ハ強キ免疫作用デアルトハ云ヒ得ナイノデアル。

主要文獻

- 1) **Wright**, Lancet. No. 1. 264. 417. 1923.
- 2) **Wright**, Lancet. No. 1. p. 218. 1924.
- 3) **佐藤理太朗**, 實驗醫學雜誌. 大正 15 年. 第 10 卷. 第 8 號.
- 4) **高橋三千彦**, 實驗醫學雜誌. 昭和 2 年. 第 11 卷. 第 3 號.
- 5) **眞西正直**, 實驗醫學雜誌. 昭和 4 年. 第 13 卷. 第 3 卷.
- 6) **Meissner**, Centralbl. f. Bac. etc. Orig. Bd. 106. 1928.
- 7) **Sonaki**, Central. bl. f. Bac. Orig. Bd. 106. 1928.
- 8) **青村謙造**, 大原醫學會雜誌. 昭和 5 年. 第 29 卷. 第 5 號.