

結核アレルギーに関する実験的研究

その1 菌処理について

国立福岡療養所 (所長 佐々 虎雄博士)

九州大学医学部細菌学教室 (主任 戸田 忠雄教授)

瀬川 二郎

(昭和 26 年 12 月 6 日受付)

まえがき

侵入した結核菌は、体細胞により捕捉処理されるとしても、生きのびたものはさらに増殖し、組織のアレルギーの推移とともに、結核症は展開される。

その様相は複雑であり、その運命は予見しがたい。

かかる結核菌と生体との間断のない闘いの姿を鏡下にとらえ、結核性病変発生機序並びに治癒機転の追求を試み、あわせて結核症探究への第一歩としたいというのが私の願いである。

ここに敢えて屋下に屋を架ける所以がある。

実験方法

使用した菌株は、九州大学医学部細菌学教室保存の牛型菌三輪株の岡・片倉培地 4 週間培養のものである。

実験動物は、体重 3kg 前後の成熟家兎を使用した。

方法としては、従来のスライド・セル・カルチュア法及び生田氏がその巨細胞発生の研究に際して考案した「ふたがらす」皮下挿入法により暗示を得て、結核菌塗抹「ふたがらす」皮下挿入法とも称すべきものを用いた。次にこの方法について説明を加える。

予め清拭滅菌した「ふたがらす」を用意し、この上に牛型菌三輪株又はその染色死菌或いは獣炭末等を塗抹する。かかる塗抹「ふたがらす」2枚をとり、塗抹面が外側になるように背中あわせに重ねたものを一組として、家兎の皮下に挿入する。すなわち家兎の背面で脊柱に沿い、左右両側に数個の長さ約 2cm の皮切を加える。皮下組織を十分に鈍的に剝離した後に上記「ふたがらす」を挿入し、クレンメで創口を閉じ術を終る。

経時的に創口を再び開き「ふたがらす」を取りだして観察する。標本は一回に少なくとも 2枚あるわけであるが、必要に応じてこれを折ることにより、さらに多くの切片を獲て、種々の検索に供することができる。切片はいくら小さくても「のせがらす」の上で操作することにより不自由を感じることはない。

染色は、細胞の検索にはマイ・ギムザ重染色及びノイトラルロート・ヤヌスグリユンによる超生体染色を用い、結核菌染色はチール・ギユンテル氏法によつた。

また同時に、該部の皮下結合織は藤井・平田氏²⁾に従

つて伸展標本として、超生体乃至固定染色の下に観察され、さらに数週後において「ふたがらす」を包埋するに至つた厚い結合織は固定切片標本として検討された。

固定染色された「ふたがらす」は不要面を清拭し、必要面を内側にしてバルサムで封じ鏡検に供する。

実験成績

1) 牛型菌三輪株による実験

生菌三輪株の生理的食塩水 1cc 中 0.1mg 含有平等浮游液を、ツベルクリン注射器で「ふたがらす」面上に 1 滴滴下する。その菌量は計算上約 $\frac{1}{1000}$ mg である。日光を避けて無菌箱中に乾燥させ、この生乾きのものを上記方法に従い、家兎背部の皮下に挿入する。

家兎は健康家兎と牛型菌三輪株感染約 2 ヶ月の感作家兎群とに別け、後者はさらに感染方法及び菌量等の条件を異にして実験に供した。第 1 表のとおりである。

すでに述べたように時間の経過とともに、これら結核菌塗抹「ふたがらす」は再び摘出されて観察されるのであるが、感作家兎においては、2 日にして壊死型細胞乃至崩壊型細胞が多数出現するのに対して、健康家兎ではかかる現象が著しくない。この壊死型乃至崩壊型細胞は次第に吸収され、1 週後には再び鮮明な像を呈すに至る。このことは結核家兎における Koch 氏現象の細胞学的表現として無理なく理解できるところである。

「ふたがらす」面上に出現する偽好酸球・単球・巨細胞・淋巴球の百分率(計数 200 個)は第 2 表のとおりである。ここに単球と呼ぶものは、中性赤顆粒の粗大拡散傾向の強い老化型乃至類上皮細胞等の単球系細胞を一括したものの謂とし、形態的に識別の容易である巨細胞は、方法自体の影響も一応考慮に入れて別にあげることにした。

結核菌の消長に関しては、実験方法そのものがいわば体液をメヂウムとするスライド・セル・カルチュアであり、最も良好な培地を得ているものと考えられる。従つて菌の發育のみを観察せんとする時は、「ふたがらす」の菌塗抹面を内側にして重ねたものを挿入すれば、出現細胞による直接の影響を少くすることができる。ただこの際、抗体の発生乃至抗体の先在に伴う抑制作用の出現と

第 1 表

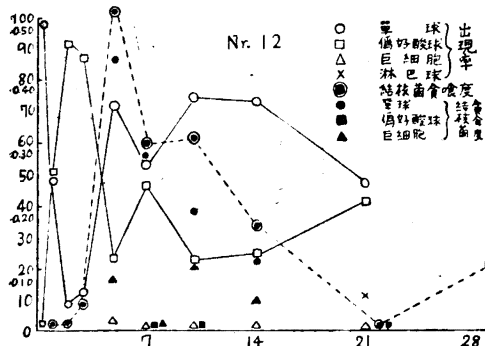
家畜番号	雌雄	毛色	感方	作法	菌量(mg) Pro. kg	罹患日数	Römer氏反	挿入前重	実験終了時重
Nr. 6	♂	灰	経気道		0.1	63	13 × 12	3.060 (+460)	3.020 (-40)
Nr. 8	♂	褐灰	耳静脈		0.1	63	22 × 22	2.680 (+80)	2.570 (-110)
Nr. 10	♀	黒	耳静脈		1.0	63	30 × 28	3.170 (-140)	3.330 (+220)
Nr. 12	♀	灰褐	—	—	—	—	5 × 6	2.750	2.900 (+150)

註：体重欄の()の数字は前回測定値に対する増減値である

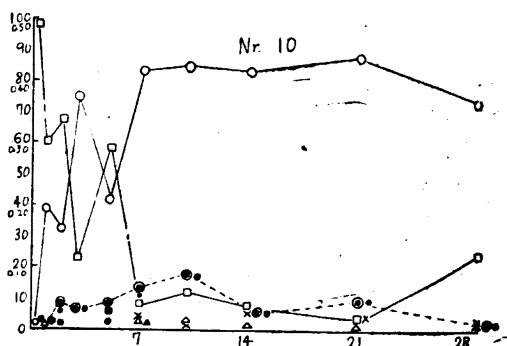
第 2 表

家畜番号	細胞種	経過日数		1/4		1		2		3		5		7		10		14		21		29	
		百分率	食度	%	P	%	P	%	P	%	P	%	P	%	P	%	P	%	P	%	P	%	P
Nr. 6	偽好酸球	58.0	0	42.5	0.01	85.5	0.02	73.5	0.01	76.0	0.02	62.0	0	28.5	0	20.0	0	24.5	0	41.5	0.02		
	単球	42.0	0	57.5	0.01	14.5	0.01	26.5	0.06	24.0	0.06	36.0	0.06	69.0	0.05	80.0	0.08	73.0	0.10	51.5	0.08	0.09	
	巨細胞	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.0	0.02	2.5	0.08	0	0	0	0	0	0	0	0
	淋巴球	0		0		0		0		0		0		0		0		2.5		7.0			
Nr. 8	偽好酸球	97.0	0	50.0	0.01	93.5	0.03	92.0	0.02	94.0	0.01	59.5	0	66.0	0.05	46.5	0	58.0	0.03	51.0	0.01		
	単球	3.0	0	50.0	0.01	6.5	0.03	8.0	0.02	6.0	0.02	48.5	0.08	34.0	0.03	51.5	0.03	36.5	0.08	40.5	0.01		
	巨細胞	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	淋巴球	0		0		0		0		0		0		0		2.0		5.5		8.5			
Nr. 10	偽好酸球	99.0	0.01	60.0	0	67.5	0.01	24.5	0	58.5	0.03	9.5	0	12.5	0	9.5	0	5.0	0	2.5	0		
	単球	1.0	0	39.5	0.01	32.5	0.03	75.5	0.03	41.5	0.04	84.5	0.06	85.0	0.09	83.0	0.03	88.5	0.04	73.0	0.01	0.01	
	巨細胞	0	0	0.5	0	0	0	0.5	0	0	0	2.5	0.01	2.0	0	1.0	0	1.5	0.01	0.5	0		
	淋巴球	0		0		0		0		0		3.5		0.5		6.0		5.0		1.5			
Nr. 12	偽好酸球	2.5	0	51.5	0	91.5	0	87.5	0	24.0	0	46.0	0.01	23.0	0.02	25.0	0	41.0	0	0	0		
	単球	97.5	0	48.5	0.01	8.5	0.01	12.5	0.04	72.0	0.43	53.5	0.28	75.0	0.19	73.5	0.17	47.5	0.01	0.11	0.11		
	巨細胞	0	0	0	0	0	0	0	0	4.0	0.03	0.5	0.02	2.0	0.11	1.5	0.05	0.5	0	0	0		
	淋巴球	0		0		0		0		0		0		0		0		11.0		0			

第 1 図



第 2 図



いうことを、予め考慮に入れてかからなければならないであろう。

これら塗抹結核菌の各種細胞による貪喰状態がさらに追求された。検索視野(200視野)中の貪喰細胞数(C)とこれに貪喰されている結核菌数(T)より得られた $\frac{\sum CT}{200}$ をもつて、平均貪喰度 (P・P) とすると、その成績は第2表の示すところである。菌数の表示方法は島田氏³⁾によつた。

健康家兎及び結核家兎の一例について、以上の出現細胞百分率及び平均貪喰度を図示したものが第1,2図である。

2) 染色死菌による実験

生菌の代りに予め染色せる死菌を用いることにより、菌の増殖によつてもたらされるいつさいの因子を排除し、あわせてこれを貪喰する細胞の鮮明な像を得んとする目的の下に試みられた。

すなわち前回に塗抹したものが生菌であつたのに反し、今回はその染色死菌が用いられた。培養約6週間の牛型菌三輪株を 100°C 1時間滅菌し、さらにチール氏液にて 60°C 10分間加温染色したものを、塗抹せる「ふたがらす」が、家兎の背部皮下に挿入された。

実験動物は健康家兎と牛型菌三輪株感染約4ヶ月の結核家兎とを用いた。これ等家兎の感染菌量、実験終了時迄の体重及びツベルクリン・アレルギーの変化等は第3表の示すとおりである。

「ふたがらす」面上に出現する細胞の百分率を試み、これが時間の経過に伴う推移を観察するとともに、塗抹染色死菌の貪喰度を前回と同様な方法によつて表現した。胞体内に抗酸性桿状菌を認める場合のみを貪喰が行われたものとした。貪喰された菌が破壊されて小さくなったものは偽好酸顆粒と間違ふ恐れがあるので加えないこととした。その成績は第4表であり、これを図示したもの

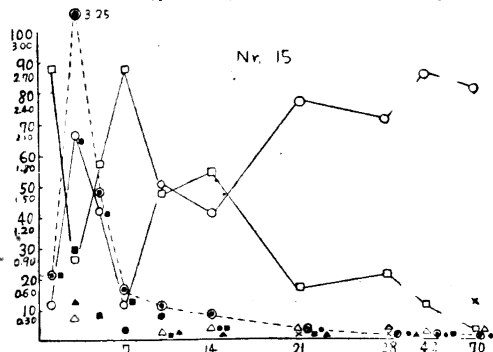
第 3 表

家兎番号	性別	毛色	感作方法	菌量 (mg) Pr. 0.12	罹患日数	挿入前 R ₀ mer 反応	挿入後 R ₀ mer 反応	挿入前体重	実験終了時体重
Nr. 11	♀	白	耳静脈	1.0	119	22×23	27日 25×26 69日 30×30	3,000 (+300)	2,600 (-400)
Nr. 15	♀	白	—	—	—	0×0	12×13 24×25	4,000	3,550 (-450)

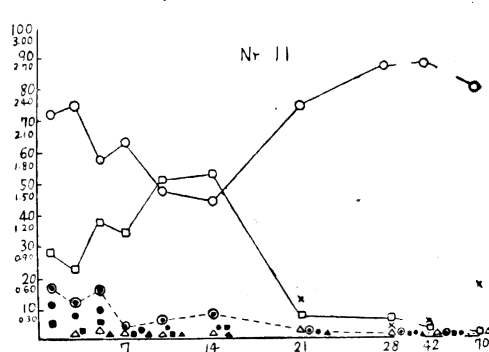
第 4 表

家兎番号	細胞種	経過日数		1		3		5		7		10		14		21		28		42		70	
		%	P.P.	%	P.P.	%	P.P.	%	P.P.	%	P.P.	%	P.P.	%	P.P.	%	P.P.	%	P.P.	%	P.P.	%	P.P.
Nr. 11	偽好酸球	280	0.15	240	0.11	385	0.15	350	0.03	505	0.03	530	0.13	80	0	65	0.01	45	0.01	10	0		
	単球	720	0.35	750	0.27	535	0.30	635	0.09	480	0.14	450	0.15	750	0.06	375	0.06	385	0.02	800	0.02		
	巨細胞	0	0	0	0	30	0.04	15	0.01	15	0.01	20	0.01	30	0.03	15	0.01	20	0	20	0		
Nr. 15	偽好酸球	385	0.62	265	0.90	575	0.26	885	0.41	480	0.01	550	0.13	775	0.03	220	0	120	0.01	35	0		
	単球	115	0.06	660	1.95	425	1.22	115	0.10	495	0.28	405	0.13	775	0.05	720	0.04	855	0.02	810	0.02		
	巨細胞	0	0	75	0.41	0	0	0	0	25	0.05	45	0.01	45	0.01	45	0.01	25	0	50	0		
Nr. 15	リンパ球	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	140	0.45	45	0.15	50	0.17	170	0.55		

第 3 図



第 4 図



が第 3, 4 図である。

3) 獣炭末による実験

結核家兎の皮下に惹起される純粋異物反応の基本形式を識り、前回迄の結核性病変をさらに解析せんとして本実験が試みられた。

異物としては充分磨砕された薬用骨炭末が用いられた。すなわち 0.01% アラビアゴム加減菌生理的食塩水

1cc 中骨炭末 1mg 浮游液塗抹「ふたがらす」が、結核家兎の背部皮下に挿入される。アラビアゴムは骨炭末の附着を容易ならしめるために加えられた。「ふたがらす」面上の骨炭末は計算上 0.02mg である。

家兎の性状を第 5 表に示す。

その成績は第 6 表の示すとおりであり、これを一括図示したものが第 5 図である。

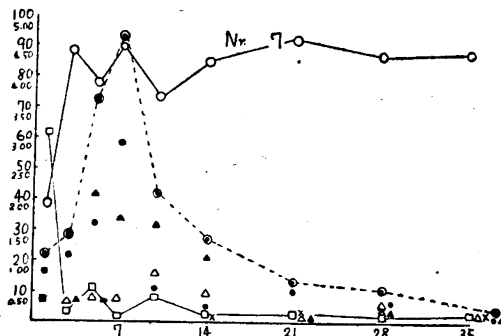
第 5 表

家兎番号	性別	毛色	感作方法	菌量 (mg) PrU. K ₂	罹患日数	挿入前体重	実験終了時体重
Nr. 7	♀	白	経気道	0.1	196	2.900 (-300)	2.940 (+40)

第 6 表

家兎番号	細胞種	経過日数		1		3		5		7		10		14		21		28		35		
		%	P	%	P	%	P	%	P	%	P	%	P	%	P	%	P	%	P			
Nr. 7	偽好酸球	61.5	0.36	4.5	0	11.5	0	20	0	9.5	0	3.5	0	4.0	0	1.5	0	4.0	0	0	0	
	単球	38.5	0.76	1.11	89.5	1.10	1.45	79.5	1.60	3.65	29.5	4.67	0.53	2.12	0.25	1.35	0.54	0.66	0.31	0.58	0.06	0.09
	巨細胞	0	0	6.9	0.26	9.0	2.05	9.0	1.72	1.65	1.60	1.00	1.11	1.5	0.12	7.0	0.28	4.0	0.04	0	0	
	リンパ球	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.5	3.0	5.0	4.0	0	0	0	0	0	

第 5 図



総括並びに考按

実験 1 によつて直ちに気付くことは、健康家兎と感作家兎との間に見られる平均貪喰度の大きな相違である。

まず健康家兎についてみるに 2 日, 3 日と貪喰像は次第に増加し, 5 日で最大に達する。その後漸次減少の傾向をたどり 3 週にして最低値を示し, その後は再び増加の兆を示す。これに対して感作家兎群においては前者のように著しい貪喰像を示すことなく, その曲線は概ね平坦である。このことだけをもつてすれば感作家兎における貪喰能が、健康家兎における貪喰能よりも弱いかの如き印象を与えるのであるが、これは全く別の観点から説明されるべきであろう。

すなわちまず考えられることは、前にも触れた如く、健康家兎の皮下に挿入された結核菌は最も理想的な条件の下に培養され、旺盛なる繁殖力を示して増加する。このひたすらに増殖する結核菌に対して、生体は異物反応をもつて応じ、多量の単球による激しい貪喰像を呈す。これに反して感作家兎群においては、その抗体先在という条件の下に挿入された結核菌の発育は必ずしも最適とはいえず、むしろ何等かの程度に抑制作用を受けていることは、想像に難くない。このために菌の増殖は極めて遅々たるものであり、死滅してゆくものもまた決して少なくないであろう。このように結核菌そのものが少いための結果として、貪喰像そのものも小さいことが考えられ、前者では結核菌が多いため、これを貪喰する細胞もまた多数発見されるということができよう。

健康家兎において異物反応として処理されることを免がれたものは、3 週頃より再び増加の傾向を示すが、すでに感作の相に入つた結果として生ずると考えられる抗体による抑制の結果は、感作家兎群に近い増殖力を、従つてまた貪喰能を示すにとどまるのである。

しかしこの考え方は、さらに染色死菌が用いられることによつて、結核菌の発育条件という要素だけで、かかる両者の相違を理解することの矛盾に逢着するに至り、さらに検討を余義なくされるであろう。

すなわち実験 2 の健康家兎の結核菌貪喰度は、第 3 日

に高い頂を有する急峻を示し、1週頃よりゆるやかな傾斜となり、次第に平坦な曲線を呈す。この急峻な山を生ずる所以は、挿入せる結核菌が死菌であることより、前述のように菌の増殖に伴う貪喰度の増加ということは考えられず、従つてつぎのように解釈することがさらに妥当ではあるまいか。すなわち攝取された結核菌が胞体内で消化されるのにある時日を要し、従つて消化の結果が現われるまでは、ただ貪喰という作用のみが表面にでて、その蓄積された最大の状態が第3日であり、相対的に消化力が大きくなつたときが、それ以後の姿であると理解すべきであろうか。

この山の状態から結核菌の処理には3~5日を必要とすることが計算される。勿論この日数が菌と生体との関係によつて決定されることは当然であろうが、鏡検的におよその見当を得たことは興味深い。

貪喰度の山が単球の最初の山に一致することは、結核菌の処理の主役を演ずるものが単球であることを意味する点において異論はないが、偽好酸球の貪喰能もまた決して小さくないことは看過できないであろう。同時に偽好酸球の他の重大な役割として、その崩壊産物による単球胞体内結核菌の消化に及ぼす酵素的作用というものも推測されはしないであろうか。

単球系細胞の後期出現は、前期出現が菌の直接の処理であつたのにひきかえ、障碍された組織の修復機転にあずかるための新たな任務としての出現が考えられ、菌と生体とが治癒形式において平衡状態にある姿が4~5週以後の表現であろう。巨細胞の演ずるところもまた単球に準じ、その作用が結核菌を含めて異物処理にあることは論ずるまでもない。

上述の平衡期に入つて初めて淋巴球を認めることより、淋巴球の作用が結核菌に対する直接作用でなく、組織の修復に参加するものと解して差支えないであろう。

感作家兎では染色死菌貪喰度がきわめて小さく、かつ急な山をなすことなく概ね平坦な曲線を示すことは、健康家兎の場合に比べて全く著しい相違といわねばならない。しかも挿入された染色死菌の質、量ともに同じであるとすれば、生体の反応の側よりする以外はこの現象を説明することは困難である。

先在する抗体条件は、染色死菌の挿入とともに発生した単球の貪喰能及び消化力を最大限に活動せしめ、急速にこれを消化処理せしめるものと考えさせる。従つて貪喰の蓄積像としての山を作ることなく、その数値の極めて小さいことも理解される。

このことは適度な抗体条件の先在が、結核菌の処理を如何に容易ならしめるか、従つてまた生体の反応が如何に急速に行われるかを物語るものであろう。しかしここに生起する病変が軽度であるということは、「ふたがらす」を包埋する結合織の厚さが健康家兎の場合に比し菲薄となるという結果としてはねかえり、生体のもつ反応の深さというものをいまさらに思ひかえさざるを得ない。

最後に結核家兎の獣炭末貪喰度は、7日にその頂を有する急峻な曲線にして、その主役を演ずるものは単球及び巨細胞である。偽好酸球は第1日に貪喰像を示すが、その後においてこれを認めることはできなかつた。貪喰度曲線がその高さ、幅において前述の健康家兎の染色死菌処理の場合に比し、非常に大きいこと及びその頂が3日から7日にずれていることは獣炭末という異物の持つ難処理性並びにその破壊された極小片まで追求しようという二点に帰納することができるであろう。

しかし少くとも貪喰度という点についてのみえは、両者ともに異物反応であることにおいて本質的な差は認められない。かかる観点からすれば健康家兎の結核菌処理は所詮修飾された異物反応に過ぎないということもできるであろうか。

む す び

結核菌塗抹「ふたがらす」皮下挿入法により、結核菌処理の問題を中心として生体の反応のあり方が追求された。

健康家兎と感作家兎との間には、結核菌処理上本質的な相違が認められる。

健康家兎は侵入した結核菌に対して抗体の発生をみるまでは、所詮修飾された異物反応を示すに過ぎない。

しかしさらに観方を変えるならば、この修飾に参加する部分こそ結核菌に特有な姿と考えられ、ここに稿を改めて報告を予定している劃分による実験の重要さが浮び上つてくるのではあるまいか。

本研究の機会を与えられ、御校閲を賜つた恩師佐々博士並びに御指導、御校閲を辱した恩師戸田教授に感謝いたします。

文 献

- 1) 生田輝喜：日本血液学会雑誌，12，211—223，昭24，13，1—13，昭25。
- 2) 平田ともゑ・藤井淳子：病理学雑誌，3，200—205，昭19。
- 3) 杉山繁輝：血液及び組織の新研究と其方法，67，昭17。