

家兎肺臓における実験的結核性空洞の形成

その1 結核アレルギーに関する実験的研究

国立療養所刀根山病院(院長 渡辺三郎博士)

山村雄一・矢坂 茂・山口正民・遠藤一男

岩倉弘之・中村 滋・小川弥栄

(昭和 28 年 12 月 16 日受付)

(本論文の要旨は第2回日本アレルギー学会, 第8回厚生省医務局研究発表会, および第8回日本結核病学会近畿地方会において発表した)

第1章 緒 言

動物に実験的に結核性空洞を作製しようという試みは古くから行われている。また動物の実験的結核に関する研究において, 研究者の企図とは別に結核性空洞が作製せられている場合も少なくない。古く青山(敬)は家兎の扁桃腺内に人型結核菌強毒株を注射して, 幼若家兎8匹中3匹に, 成熟家兎8匹中2匹に, 肺臓において空洞が形成せられていることをみとめた¹⁾。武田および新保等は家兎の経気道感染において肺臓に空洞が形成せられることをみとめ, アドレナリン投与を同時に行くと乾酪性肺炎および空洞の形成が著明であつたと述べている²⁾。

われわれは家兎肺臓に結核性空洞を実験的に作製したいと考えて, 以下述べるような実験条件の詳細なる検討を行つた。また空洞の作製が供試動物に対してできる限り高率であり, 作製せられた空洞が人間のそれに相似するものであることを目標として実験を行つた。従つて第3章において述べる如く, 特に空洞壁に関しては病理組織学的に詳細なる研究を行つた(第2報参照)。

第2章 実験方法

(1) 家兎の結核菌による感作

動物は体重約 2kg のツベルクリン反応陰性の成熟家兎を選び(雌雄を問わない), 次の組成を有する混合物の 1ml を家兎大腿外側皮下に, 5日間隔5回, または7日間隔4~5回にわたつて注射し, ツベルクリン反応を陽性転化せしめた。使用結核菌は牛型結核菌(三輪株)または人型結核菌(青山Bまたは Frankfurt 株)のグリセリン寒天培地に3~4週間培養したものである。

注射に使用した混合物

結核菌 100°C 15分加熱死菌……………125mg(湿量)
流動パラフィン……………10ml
脱水ラノリン……………5ml
家兎肺臓 2g の生理的食塩水浮游液
(Potter & Elvehjem の glass-homogenizer³⁾にて調製)……………10ml

以上のおのおのを混和し, glass-homogenizer を用いて氷冷下に5~10分間 homogenize し均等な浮游液とする。

以上の注射を行うことによつて, 供試家兎はすべてツベルクリン反応を陽性にする事ができた。

(2) 二次抗原の注射

上の方法によつてツベルクリン反応が陽性となつた家兎に, 次の組成を有する二次抗原を胸壁肋骨間を通じて肺臓内に直接注射した。二次抗原は牛型(三輪株)または人型(青山B, Frankfurt 株)結核菌生菌 1mg(湿量), 流動パラフィン3容, 脱水ラノリン1容の混合液または生理的食塩水の 0.1ml に浮遊せしめたものである。注射は原則として左右肺臓内へ行つた。二次抗原の注射後家兎の一般状態を観察しながら約 30 日乃至 60 日後に頸動脈よりの瀉血によつて致死せしめ, 剖見を行つた。

第3章 実験的結核性空洞の定義

空洞が実験的に形成される過程を想像してみると, まず肺臓の一定範囲に結核性炎症(滲出性の著しい乾酪性肺炎)がおこり, 次にその中心部は次第に乾酪化の程度をつよめると同時に, 周辺部に格子センイ・膠原センイ・センイ芽細胞の増殖が起り, 結核性肉芽層が形成されてくる。乾酪性物質はやがて軟化融解して気管枝を経て排出されるが, 一方乾酪物質の周辺には結合織性の壁が完成せられ周囲肺組織と明かに分割せられるようになる。このような過程を考慮に入れて実験的に形成せられる肺臓の空洞(又は物質欠損)を分類して次の4型とした。

A型~中心部に壊死または物質欠損はみとめられるが, 周辺に結核性肉芽層がみとめられないもの。

B型~壊死層の外側の間質部から壊死部内方に向つて格子センイや膠原センイの増殖がはじまつているもの。

C型~壊死層の周辺に肉芽層の形成が明瞭にみとめられ, 結合織(格子センイ・膠原センイ・センイ芽細胞の増殖)による分割化がはじまつているもの。

D型~C型においてみられた結合織の層が更に完成せられ, 壊死および物質欠損部に対して完全に分割化が行われたもの。

すなわちA, B型は未熟な空洞(物質欠損)ともいふべきものであつて, C, D型となるに従つて次第に空洞壁が完成せられ, 人間にみられる空洞に近づいている。われわれは上の分類においてCまたはD型のみを実験的に

作製した結核性空洞と定義し、未熟なAまたはB型(これらの型は顕微鏡的空洞としてしばしば証明される)や、家兎肺臓にしばしば出現する肺気腫とは厳密に区別して取扱つた(第2報において詳述)。

以上の空洞壁の性状を組織学的に検討することともに、空洞内および空洞壁に存在する結核菌をそれぞれ Ziehl-Neelsen 法、隈部氏法により染色検鏡して証明し、また岡・片倉氏法により生菌(二次抗原)であることを確かめた。また形成せられた空洞が単に二次抗原の圧迫による物質欠損でないことを確かめる為に、空洞内壊死部の Bielschowski 染色を行つて肺臓組織の格子センイが残存していることを確かめた。従つて第4章以下において記載される実験的に形成された結核性空洞は、以上の諸条件をことごとくみたすものであつて、そのうち組織学的所見については統報において詳述する。

第4章 結核性空洞の形成

〔1〕牛型結核菌を使用した場合の結核性空洞の形成

第1表に示す如く家兎の感作に際して牛型結核菌(三輪株)の加熱死菌(実験方法は第2章)を使用し、肺臓内注射用の二次抗原にも牛型結核菌(三輪株)の流動パラフィン、脱水ラノリン混合液浮游液(菌量は生菌湿量 0.1 mg)を使用したときは5例中5例に直径が 0.5cm より 2.0cm に及ぶ結核性空洞をみとめた。その1例は附図1に示す如くである。その空洞壁の性状はすべてCまたはD型であつて、二次抗原の注射後日数が経過した例はど

空洞壁は完成せられていた。その成績は第2表に示す如くである。しかるに感作を牛型結核菌(三輪株)を使用し、型の如くに行つても、二次抗原として牛型結核菌生菌の生理的食塩水浮游液を使用した場合には、空洞形成率は極めて悪く、5例中1例に過ぎない。またこの例では高度の乾酪性肺炎を惹起して死亡するものが3例あつた。その成績は第1表および第3表に示す如くである。ただし空洞形成のみとめられた1例の空洞壁はD型であつて、附図2に示してある。感作を行わないで、ツベルクリン反応陰性の正常家兎に牛型結核菌(三輪株)生菌の流動パラフィン、脱水ラノリン浮游液(菌量 0.1mg)を二次抗原の注射のときと同様に肺臓内に注射したところ、第1表および第4表に示す如く5例中2例に空洞が形成せられ、その空洞壁の性状はいずれもC又はD型であつた。その1例は附図3に示す如くである。また同様に感作を行わないで牛型結核菌(三輪株)生菌の生理的食塩水浮游液を肺臓内に注射した場合には第1表に示す如く空洞の形成をみとめない(附図1~3, 巻頭写真参照)。

感作のみを行つて二次抗原の注射を行わない場合、および流動パラフィンと脱水ラノリンを3:1の割合の容積比に混合したものの0.1mlを家兎肺臓内に直接注射した場合のいずれにおいても、肉眼的には肺臓に異常をみとめなかつた。その成績は第1表に示す如くである。

〔2〕人型結核菌を使用した場合の結核性空洞の形成

牛型結核菌(三輪株)の代りに人型結核菌(青山B株ま

第1表 家兎肺臓における結核性空洞の形成

家兎番号	感作	二次抗原(肺臓内注射)	二次抗原注射後剖見迄の日数	空洞の形成*
CL _{7~11}	牛型結核菌(三輪株)加熱死菌と流動パラフィン, 脱水ラノリン, 家兎肺臓 homogenate 混合液	牛型結核菌(三輪株)生菌の流動パラフィン, 脱水ラノリン浮游液	30日	2/2
			60日	3/3
KCL _{a-c}		同上	30日	1/2
			60日	1/3
KCL _{1~8}	牛型結核菌(三輪株)加熱死菌と流動パラフィン, 脱水ラノリン, 家兎肺臓 homogenate 混合液		30日	0/2
			60日	0/1
CLS	同上	牛型結核菌(三輪株)生菌の生理的食塩水浮游液	30日	1/5 (内3死亡)
KCLS		同上	30日	0/2
KCLad		流動パラフィン, 脱水ラノリン(3:1)の0.1ml	30日	0/2
			60日	0/2
CL _{1~3}	人型結核菌(青山B株)加熱死菌と流動パラフィン, 脱水ラノリン, 家兎肺臓 homogenate 混合液	人型結核菌(青山B株)生菌の流動パラフィン, 脱水ラノリン浮游液	30日	1/3
CL _{4~6}	同上。但し人型結核菌(Frankfurt株)を使用	人型結核菌(Frankfurt株)生菌の生理的食塩水浮游液	30日	1/3

* は分母に供試家兎数を、分子にCまたはD型の空洞を形成した匹数を示す

第 2 表

感作；牛型結核菌

二次抗原；牛型結核菌の流動パラフィン，脱水ラノリン浮遊液

家兎番号	ツベルクリ反応	二次抗原の注射後日数	空洞形成			その他の病変				
			大きさcm	所在	型	肺	肝	腎	脾	淋巴腺
CL ₇	+	30日	1.7×1.7	右上葉	C~D	全肺野米粒大一大豆大結節多数	なし	なし	やや充血	傍気管支淋巴腺米粒大に腫脹
CL ₈	+	30日	0.5×0.5	左上葉	C~D	左肺乾酪性肺炎 右肺粟粒大一小豆大結節多数	米粒大結節多数	貧血 濁濁	なし	同上
CL ₉	+	60日	0.5×0.5 0.5×0.5 0.5×1.0	右上葉 (3個)	D	全肺野米粒大結節多数	小豆大結節1個	なし	なし	同上腸間膜淋巴腺小豆大腫脹
CL ₁₀	+	60日	1.0×1.0 0.5×0.5 0.5×0.5 0.5×0.5	右中葉 左上葉 (3個)	D	全肺野米粒大結節多数	細葉構造明著小豆大結節3個	粟粒大結節数個	濾胞不明	傍気管支淋巴腺腫脹
CL ₁₁	+	60日	2.0×1.5	左上葉	D	全肺野米粒大結節多数	なし	濁濁	なし	同上腸間膜淋巴腺小豆大腫脹

第 3 表

感作；牛型結核菌

二次抗原；牛型結核菌の生理的食塩水浮遊液

家兎番号	ツベルクリ反応	二次抗原の注射後日数	空洞形成			その他の病変					備考
			大きさ	所在	型	肺	肝	腎	脾	淋巴腺	
CLS ₁	+	30日	1×1.5×2.0	右上葉	C~D	全肺野米粒大結節多数	細葉構造中等度者明	なし	なし	なし	
CLS ₂	+	30日	/	/	/	全肺野充血著明粟粒大結節多数	同上	なし	なし	傍気管支淋巴腺米粒大に腫脹	
CLS ₃	+	/	/	/	/	腫脹充血	なし	軽度鬱血	軽度鬱血	なし	肺内注射3日後死亡
CLS ₄	+	/	/	/	/	腫脹充血	グリソン氏箱軽度の凹形細胞浸潤	同上	同上	なし	肺内注射8日後死亡
CLS ₅	+	/	/	/	/	腫脹充血	なし	同上	同上	なし	肺内注射10日後死亡

たは Frankfurt 株) を使用して、同様な空洞形成の実験を行つたが、その成績は第1表に示す如くである。すなわち牛型結核菌に較べて人型結核菌を使用した場合は空洞形成率が極めて悪い。しかしこのような差がすべての人型または牛型結核菌の菌株についてあらわれるかどうかは将来検討を加える必要がある。

第5章 考 察

山村等は家兎肝臓において結核アレルギー反応(抗原抗体反応)を惹起せしめると、それに伴つて肝臓カタラーゼ作用が低下することを見出し、これを便宜上結核アレルギー性肝臓カタラーゼ反応(A.L.K.反応)と名づけた(4)。この報告において述べた如く家兎肺臓に実験的

に結核性空洞を形成せしめる場合においても、予め動物を結核菌を用いて感作しておく方が高い率で成功し、この場合においても結核抗原抗体反応が一定の役割を演じているものと思われる。

家兎の感作に際して、われわれは結核菌の加熱死菌に流動パラフィン、脱水ラノリンおよび家兎肺臓 homogenate を加えたものを用いた。この方法によると、ほとんど例外なく家兎のツベルクリン反応は陽性転化する。感作の方法として生菌を使用してもよいと思われるが、家兎に牛型結核菌生菌の適当量を使用することが困難であつて、大量に過ぎると動物は死亡してしまふし、少量ではツベルクリン反応を確実に陽性転化し難い。この故

第4表 感作を行わないで、肺内に牛型結核菌の流動パラフィン、脱水ラノリン浮游液を注射

家兎番号	二次抗原注射後の日数	空洞形成			その他の病変				
		大きさcm	所在	型	肺	肝	腎	脾	淋巴腺
KCL _a	30日	/	/	/	乾酪性肺炎	細葉構造著明	粟粒大結節少数	なし	傍気管支淋巴腺 粟粒大腫脹
KCL _b	30日	0.5×0.5	左上葉	C	右上葉乾酪性肺炎 左下葉粟粒結節多数	細葉構造著明	充血	なし	同上腸間膜淋巴腺 小指頭大腫脹
KCL _c	60日	/	/	/	両側上葉乾酪性肺炎 同下葉粟粒大結節多数	粟粒大～米粒大結節数個	米粒大～粟粒大結節多数	なし	傍気管支淋巴腺 小豆大腫脹 腸間膜淋巴腺 小豆大腫脹
KCL _d	60日	0.5×0.5 1.0×0.5	左上葉 右上葉	D	米粒大結節少数	なし	粟粒大結節少数	濾胞中等度著明	同上
KCL _e	60日	/	/	/	粟粒大～小豆大結節少数	粟粒大結節少数	粟粒大結節少数	粟粒大結節少数	同上

にわれわれが動物の確実かつ適度なアレルギー化の方法として加熱死菌を使用したことは意味があつたと信じている。

次に実験成績から明らかな通り、供試動物に対して菌型（または菌株）を選ぶことが必要である。また二次抗原として肺臓内に注入する菌量も適当量であることが必要である。大量に過ぎると乾酪性肺炎を起すし、少量であると、軟化融解して空洞を形成するのに不充分であろう。すなわち〔毒力×菌量〕が空洞形成に適当なものとなければならないことを示唆している。二次抗原が必ず生菌であることを必要とするか、また菌量の至適量がいくらであるかは今後の研究によつて検討する。

二次抗原の動物に対する適用法としては、扁桃腺内注射法¹⁾、気管内注入法^{2) 3)}、エロゾルとして droplet nuclei 感染による方法⁷⁾等をあげることができるが、われわれは直接に肺臓内に肋間を通じて注入する方法を用いた。この方法によると比較的確実に1肺葉内に抗原を到達せしむることができると思われる。更に抗原として流動パラフィンと脱水ラノリンに浮遊せしめた生菌を使用したとき空洞の形成率が極めて高いが、これは注入せられた抗原が一定期間局所に限局性に滞留できることが一定の役割を演じていると考えられる。但しこれ等の流動パラフィンや脱水ラノリンが単に抗原を局所に滞留せしめるのみの役割を演じているかは今後の検討によらねばならない。

実験成績から得られる以上の諸考察をまとめ上げると、家兎肺臓において実験的に空洞を形成せしめるためには (1) 予め家兎を適度に感作しておくこと。(2) 家兎に対しては牛型結核菌を使用すること。すなわち一般に動物の感受性に応じて〔毒力×菌量〕が適当でなければならぬ。(3) 二次抗原は肺臓内に注射し、しかも限

局性に滞留せしめる為に、流動パラフィンと脱水ラノリン浮游液を用いること、等の諸条件をみたすことが必要である。しかしわれわれの上に述べた実験方法に正確に準拠して実験を行えば高率に家兎肺臓に結核性空洞を作製せしめることができる。

第6章 結 論

家兎肺臓に実験的に結核性空洞を形成せしめる一方法を考案した。この方法によると従来の方法に比較して、遙かに高率にかつ完成した空洞壁を有する空洞を形成せしめることができる。

終りに御指導と御校閲を賜つた渡辺三郎先生に厚く御礼申し上げます。また御指導と御鞭撻を賜つた岡治道先生に深く感謝致します。

この研究は厚生省研究費によつて行われた。記して謝意を表する。

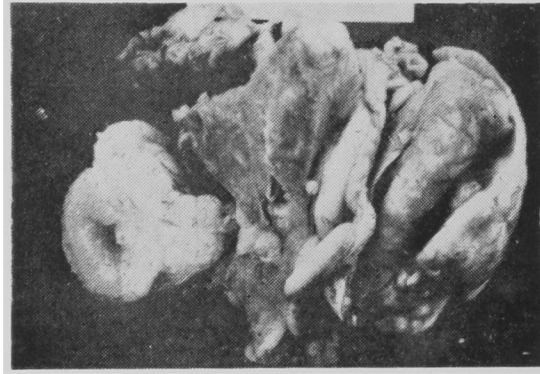
文 献

- 1) 青山敬二：結核，2，495。
- 2) 武田勝男・新保幸太郎：結核，20, 208, 275, 472, 1942。
- 3) Potter V.R. & Elvehjem C.A.: J. Biol. Chem., 114, 495, 1936。
- 4) 山村雄一・矢坂茂・今津史郎：結核，27, 362, 1952。
- 5) 矢坂茂・遠藤一男・岩倉弘之・山村雄一：結核，27, 437, 1952。
- 6) 小河衆生・岡本博史：第6回日本結核病学会近畿地方会，昭27年11月。
- 7) H.L. Ratcliffe & W.F. Wells: J. Exp. Med., 87, 575, 1948。

家兎肺臓における実験的結核性空洞の形成 (その1)

山村雄一・矢坂 茂・山口正民・遠藤一男・岩倉弘之・中村 滋・小川弥栄

附図 1



附図 2



附図 3

