

抗結核剤および抗アレルギー剤の結核アレルギーに及ぼす影響に関する実験的研究

第2編 抗アレルギー剤による実験 第3報 コーチゾン

新大医学部病理学教室 (主任 伊藤辰治教授, 指導 藤巻茂夫教授)

高橋文雄

(受付 昭和30年2月18日)

I 緒言

1935年 Kendal が副腎皮質から Compound, E (Cortisone) の分離に成功し, さらに1946年 Sarret が胆汁酸からこれの合成功して以来, Cortisone (以下 C. T と略記) がアレルギー性疾患に卓効を奏することは, すでに広く認められておるところである。結核症に C. T を投与した報告も多数あつて, Hopp等¹⁾は C. T が該症に有効であるとしているが, Spain 等²⁾他多数の人人³⁻⁶⁾は有害であるといつておる。また C. T は皮膚ツ反応をも減弱するといひ, あるいは増殖するといひ, 必ずしも一定した傾向は見られない⁷⁾⁻¹⁶⁾。さらに結核症に抗結核剤を投与した際に尿中副腎皮質ホルモン, 尿素, 尿酸, クレアチンを測定し, 副腎皮質系が刺激されることを想像している人人もある¹⁷⁾⁻¹⁹⁾。著者は結核感作海狸脾の体外培養を行い, これにツ液を添加することにより起る増殖細胞の壊死に対する抗結核剤のおよぼす影響を第1報および第2報ですでに報告したところであるが, 本編ではさらに C. T がこれに如何なる影響をおよぼすか, ひいては C. T の作用機序の一端を知らんとするのが本研究の目的である。

II 実験方法

実験方法はすでに第1報および第2報で報告した方法と同一である (第1編参照), すなわち実験 (A) では 5mg/cc 流バラ結核死菌ワクチンを接種した海狸につき, 実験 (B) では同株人型結核生菌 0.1 mg/cc を接種した海狸の脾を体外培養し, 次の5群につきそれぞれ観察した。(i) 対照群 (ii) 60倍ツ液添加群 (iii) 25 mg/cc C. T 生理的食塩水浮游液 (以下 C. T 液と略記) を添加した群 (iv) C. T 液とツ液を同時に添加した群 (v) C. T 液とツ液を等量混和し 3日間室温に放置した液を添加した群, C. T は Merck 社製の Cortone acetate を使用した。

III 実験成績

(A) 流バラ結核死菌ワクチン接種による実験

(1) 培養組織の増殖について。25 mg/cc C. T 液添加により培養組織よりの細胞の増殖は強く抑制されている。

(2) 培養組織より増殖して来る細胞について。C. T 液添加により培養液内に侵入増殖して来る細胞は淋巴球が最も多く, ついで細網細胞が多く, なお少数の多核白血球, 単球および極く僅かの線維芽球である。また第1表に示す如く C. T 添加により壊死に陥っている細胞は淋巴球が最も多く, 組織球も増殖帯の周辺部ではかなり壊死に陥っており, 核は極めて多くの細片に破碎され形も色もで円形, 楕円形或いは不規則であり, 大きさも各種である。また核が流失してつて細胞膜の輪廓だけをとどめているものも多数見られる。

(3) 培養細胞の壊死状態の比較について。各群における培養細胞の壊死状態を比較すると第1表に示す如くその壊死細胞の数は対照群以外はいずれも極めて多い。この百分比を見ると C. T 液のみを添加した群においても6時間で 48.4%, 12時間で 52.8% を占めており, C. T 液およびツ液を同時に添加した群ではそれぞれ, 60.0%, 64.5%, 又両液を予め混和した液を添加した群でも 51.5%, 53.3% と高率を示しており, これらの数はツ液を添加した群の 34.5%, 44.7% よりいずれも高率である。

(B) 結核生菌による実験

(1) 培養組織の増殖抑制および増殖細胞についても亦いずれも実験 (A) とほとんど差が見られない。

(2) 培養細胞の壊死状態を各群について比較して見るに, これまた第2表に示すように, 対照群においては6時間で 7.5%, 12時間で 11.5% であるに比し C. T 液添加群ではそれぞれ 57.0%, 64.5% を示し, また C. T 液とツ液を添加した群では 75.5%, 78.3% とさらに高率であり, 両液を予め混和した液を添加した群では 60.0%, 67.5% といずれもツ液を添加した群の 46.5%, 64.0% より高率があるいは大差ない成績を示

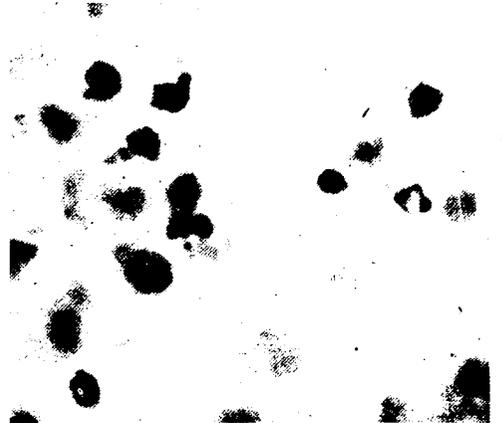
附 図

第 1 図



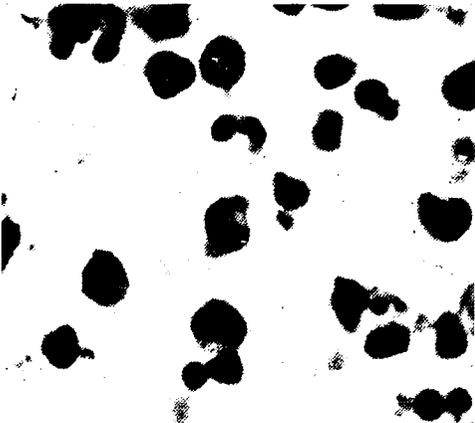
(説明) 流パラ結核死菌5mg/c.c. 1c.c. 接種海猿脾の体外培養に25mg/c.c. C.T. 液添加12時間培養したもので細胞の増殖は抑制されている (2×10)

第 2 図



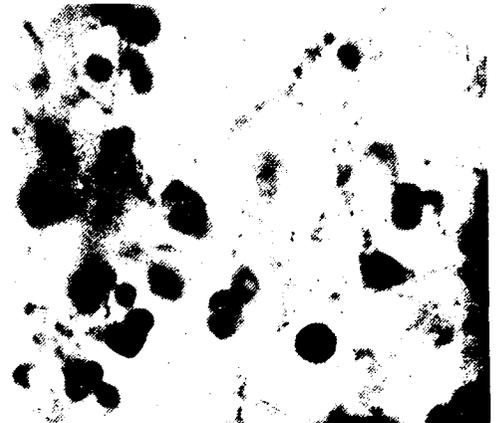
(説明) 同左図, 強拡大(10×80油浸) 種々な壊死状態にある細胞を示す

第 3 図



(説明) 0.1mg 結核生菌感作海猿脾に, C.T. とツ液添加したもの6時間培養, 細胞は高度に壊死に陥っている (10×80油浸)

第 4 図



(説明) 同左図, C.T. とツ液を混和し3日間放置した液を添加したもの6時間培養, 同じく細胞の壊死状態を示す (10×80 油浸)

第1表 C.T液添加によるツ壊死作用の影響
(流パラ結核死菌実験)

培養より固定迄の時間 成績 添加液	6 時間			12 時間		
	A壊死細胞数	B全細胞数	A/B×100 百分比(%)	A壊死細胞数	B全細胞数	A/B×100 百分比(%)
対 照	14	281	5.0	19	249	7.7
ツ液添加	91	261	34.5	90	201	44.7
C.T液添加	134	277	48.4	139	282	52.8
C.T液とツ液を同時に添加	99	165	60.0	80	124	64.5
C.T液とツ液を等量混和し3日間室温放置液	86	167	51.5	88	165	53.8

注 (1) AおよびBは各群共3~6コの組織片毎に2~3回100~300コ宛数え、その各平均細胞数である
(2) 5mg/cc 流パラ結核死菌ワクチン 1cc 接種、接種後43日目に実験

第2表 C.T液添加によるツ壊死作用の影響
(結核死菌実験)

培養より固定迄の時間 成績 添加液	6 時間			12 時間		
	A壊死細胞数	B全細胞数	A/B×100 百分比(%)	A壊死細胞数	B全細胞数	A/B×100 百分比(%)
対 照	15	200	7.5	23	200	11.5
ツ液添加	98	200	46.5	128	200	64.0
C.T液添加	114	200	57.0	129	200	64.5
C.T液とツ液を同時に添加	151	200	75.5	156	200	78.3
C.T液とツ液を等量混和し3日間室温放置液を添加	120	200	60.0	135	200	67.5

注 (1) A及びBは各群共3~6コの組織片毎に2~3回200コ宛数え、その各平均細胞数である
(2) 0.1 mg/cc 結核死菌 0.5cc 接種、接種後、37日目に実験

ている。

IV 文献的概観

結核症においては一般に副腎皮質系にも機能不全を来すことが知られている。それ故に抗結核剤投与により、副腎皮質系機能不全が回復することは、例えば伊藤¹⁷⁾が SM 投与患者につき、関¹⁸⁾、長浜¹⁹⁾は INAH 投与により、それぞれ副腎皮質系機能が亢進して来るといふ点よりも明白であり、また Hopp¹⁾等は C.T を結核患者に投与し、かかる機能不全が回復し、患者は食欲増進し、一般状態が良くなるから C.T は結核治療薬として利用する価値があるといっている。これに反し児²⁰⁾は肺結核を合併せるリュウマチス患者に C.T を投与したところ、リュウマチスは好転したが結核が進行し不幸な転帰を取った 58 歳男子の 1 例を報告し、同様に Irévin 等⁶⁾は 18 歳の女子に ACTH および C.T を投与し結核を発病せしめた 1 例を報告している。Spain²⁾

は C.T を投与した結核海狸における各臓器の結核性病変が、対照より悪化し広汎であり、脾の大きさを縮小させている点および肉芽性組織の形成が阻害されていることから C.T が細網内皮系の機能を減弱せしめることを推定している。Howes³⁾も結核海狸について同様な実験を行い、Spain と同一意見を持つに至った。Karlson⁴⁾もまた結核海狸に 1 日 2 mg の C.T を投与した群ならびに対照群とは共に各臓器に進行性の病変を認め、SM 1 日 6 mg 投与群では見得る病変はなく、SM 1 日 2 mg 投与群では若干病変が見られ、SM と C.T を投与した群では 8 匹中 6 匹における病変は対照群と何等差異を示さず、結局 C.T は SM による治療を妨げたようだといっている。Tucker⁷⁾も Karlson と同様な実験を行い全く同一の結論を得ている。又 Weimer⁸⁾は同じく結核海狸に C.T 1 日 0.2 mg, 2.0 mg, 20 mg を 1 日間投与しても結核症の程度に重要な影響は見られなかつたと報告している。Bernard⁹⁾も Weimer と同様 C.T 投与海狸の肺病変は対照と差がないとしている。また C.T 投与と皮膚ツ反応について論じている人では、上記 Karlson⁴⁾は C.T 投与群および C.T と SM を投与せる群ではいずれもツ反応が減弱したといい、また Weimer は C.T を 1 日 20 mg 宛投与した群で減弱したが 2 mg, 0.2 mg 投与群では変化は見られなかつたといっている。その他 Uehlinger¹⁰⁾、Long¹¹⁾、Stoer¹²⁾、Lerie¹³⁾、Deseze¹⁴⁾、Meister¹⁵⁾、等は同様に減弱を認めている。しかし Bernard⁹⁾、Tucker⁷⁾ および Derbes¹⁶⁾ 等はいずれも否定的で必しも一定した傾向はないようである。

V 総括ならびに考案

(1) 培養細胞に対するツによる壊死作用に対する影響について

第1表および第2表に示すように、細胞の壊死はいずれもツ液添加群におけるよりも C.T を添加した群の方がむしろ高く、ことにツ液と C.T を同時に添加した群に最も多い。すなわちツ液添加により起る抗原抗体反応の表現としての培養細胞壊死は C.T 添加により何等の修飾を受けないのみならずツ液と C.T とを添加した場合には壊死細胞は、それぞれの単独添加群よりむしろ高率である。Holden²⁰⁾は結核感作海狸脾を体外培養しこれに P.P.D と C.T とを添加せる実験を行い、C.T の 100 あるいは 1 μg/ml では感作細胞に対する P.P.D の壊死作用を阻止することは出来ないばかりでなく、C.T と P.P.D を同時に添加した場合にはそれ等の単独の場合よりはるかに有害であつたと報告しているが、著者の実験もこれと同じような結果を示したわけである。しかしして Holden はさらにマウスおよび家兎について同様な実験を行い C.T はツ感受性海狸脾にだけ毒性を発揮す

るらしいと附言しさらにC.Tは結核感作海狼脾のP.P.Dによる壊死作用を何等修飾する能力はないことを強調している。

(2) 培養組織の増殖帯に対する C.T の影響

25 mg/cc C.T 液を添加することにより、培養組織の増殖はかなり抑制されている。特にツ液を同時に添加した群およびツ液と C.T 液を予め 8 日混和した液を添加した群では、その抑制度はさらに強いようである。Leahy²¹⁾等は結核生菌で感作した海狼の脾を体外培養し、C.T 100 μ g/ml, P.P.D 80 μ g/ml を添加して細胞の増殖状態を比較した。C.T のみを添加した群における細胞の増殖は対照群より極めて良好であつて、P.P.D と C.T を添加した群は対照群とほとんど同じ位であるが、P.P.D のみを添加した群では発育は最も悪く 6 日後においても第 2 日目とほとんど変わらないといつている。以上の成績から C.T には過敏性細胞に直接保護的作用を有するものであろうとし、さらに C.T の作用機序を C.T が P.P.D に対して毒性を示さないように細胞を変化するものではなからうかとしている。Holden はこれに反し上述の如く 100 μ g/ml の C.T 添加により細胞の増殖を阻止するといつている。また正常組織の体外培養におよぼす C.T の影響について論じている報告も多数ある。Bardri²²⁾等は白血球および鶏胎児の組織を体外培養し C.T の 50 μ g/ml 以上を添加したが C.T は如何なる種類の細胞の増殖も阻害しないと、Steen²³⁾もこれと同様な成績を報告している。また Gillette²⁴⁾等も鶏胎児心臓を体外培養しこれに 2 μ g/ml より 240 μ g/ml 迄の各種濃度の C.T を添加し、30 μ g/ml 以上では細胞の増殖に障害を与え、かつ細胞核を破壊するが、それ以下の濃度のもでは増殖を促進させ、7.5 μ g/ml で増殖は最高であつたとしている。Kaufman²⁵⁾も同じく鶏胎児心臓を培養し C.T をそれぞれ 10, 25, 50, 100 μ g/ml 添加し、2 日後に増殖帯を測定し濃度が高くなるにつれ増殖も亦抑制されたといつている。著者の場合には使用せる C.T の濃度は 25 mg/cc であるので前記研究者のそれよりかなり高いが、増殖を抑制するという点については各報告と符号しているところである。

(3) 培養脾よりの増殖細胞について

C.T 添加群において培養液内に侵入して来る細胞は淋巴球が最も多く、次いで細網細胞が多くことに増殖帯周辺部においては細網細胞の遊走が淋巴球を上廻つている程である。その他少数の多核白血球、単球および線維芽球も少数見られる。壊死に陥つている細胞も淋巴球が最も多く、細網細胞も増殖帯周辺部ではかなり壊死に陥つておる。壊死細胞の核は極めて多くの細片に破碎され、また細胞の形も色みで円形、楕円形あるいは不規則であり、大きさも各種である、また核も消失し、細胞膜の輪廓だけを止めているものも多数見られる。Heilman²⁶⁾は

家兔の淋巴節および脾を体外培養し、これに C.T を 2.5 ~ 6.0 μ g/ml 添加した場合、淋巴球の退行変性を早め、さらに時間の経過とともに線維芽球も障碍されるが食細胞は障碍を受けないといつている。同様に Paff²⁷⁾は鶏胎児の皮膚および脾を体外培養し、これに C.T を 0.0005 ~ 0.025 mg/cc 添加した場合、遊走細胞は完全に活性を失い、増殖能を完全に停止し、胞体内にはまず空胞形成が起り、第 2 日目には終に空胞形成の見られない細胞はない位であるといつている。この変化は皮膚よりも脾に一層激しく起つたとしているが、著者の実験では空胞形成も稀に見られたが、空胞形成が主たる変化ではない。中村²⁸⁾、Dougherty²⁹⁾、Germuth³⁰⁾等によれば C.T は淋巴組織および淋巴球の崩壊を促すというが、著者の実験でも淋巴球の崩壊が主な変化であつた。

(4) C.T の作用機序の一般について

C.T の作用機序については動物実験および人体のアレルギー性疾患を通じて極めて多数の報告があり、その論ずるところは甚だ多様で一定の見解に達していない。まず抗体の産生を抑制すると主張するものには Germuth³⁰⁾、Bjorneboe 等³¹⁾、Malkiel 等³²⁾、Dews 等³³⁾、Moll 等³⁴⁾、Sheldon³⁵⁾ および前川³⁶⁾等があり、逆に抗体産生を抑制しないという者に Dworetzky 等³⁷⁾、Landou³⁸⁾等がある。つぎに C.T が抗原抗体反応を抑制するという者に Dougherty²⁹⁾、Germuth³⁰⁾ および白崎³⁹⁾等がある。さらに C.T の抗炎症性作用を毛細管透過性亢進の抑制に求めている者に Harrell⁴⁰⁾、Moon⁴¹⁾、Menkin⁴²⁾、Robson⁴³⁾ および栗栖⁴⁴⁾等がある。著者の実験成績よりすれば少なくとも、C.T には抗原としてのツに対し何等かの抗原力を抑制する能力もなく、またツ液の壊死作用を抑制する能力もないと結論することが出来ると思われる。以上著者は Holden²⁰⁾のいうように、C.T の培養組織に対する毒性を認め、かつ C.T がツ液の結核症に感作した海狼の脾に対する特異作用を何等修飾するものでないという感を抱かざるを得ないのである。すなわち C.T は結核アレルギー性反応の表現であるところの結核感作組織におけるツ液の壊死作用を抑制する能力を何等示さないばかりでなく、25 mg/cc という濃度においては細胞増殖に対し毒性を有することを認めたのである。

VI 結 論

(1) 抗アレルギー剤たる C.T が結核アレルギーに如何なる影響をおよぼすかを知らんが為め、流動パラフィンに包埋した人型結核死菌ワクチンおよび人型結核生菌を接種した海狼の脾を体外培養し、これにツ液および C.T 液を添加しその壊死細胞を数え比較観察した。

(2) 25 mg/cc の C.T 液は培養組織の増殖を阻止すると同時に増殖する細胞、特に淋巴球を高度に壊死に陥

らせることから強い細胞毒である。

(9) C.T は結核アレルギーにおける抗原としてのツェルクリンに結び付いてその抗原性を弱める作用も、また抗原抗体反応に阻止的に働く能力のいずれも有さない。すなわち結核アレルギーには何等の作用も示さない。

文 献

- 1) Hopp, K.; Serke, U. (Münch. Med. Wschr: 489, 1953. Zitr. Tbk-Arzt: 8, 652, 1954)
- 2) Spain, D. M.; Molomutn (Am. Rev. Tuberc: 62, 337, 1950)
- 3) Howes, R. C. et al (Proc. Soc. Exp. Biol & Med: 72, 718, 1949)
- 4) Karlson, A. G. et al (Dis. chest: 20, 469, 1951)
- 5) 児玉嘉生 (臨牀内科小児科: 8, 447, 1953)
- 6) J. Grévin et al (Semaine. Med: 29-445, 1953, Zitr. 結文抄速: 4(4), 242, 1953)
- 7) Tucker, W. B. et al (Am. Rev. Tuberc: 64, 471, 1951)
- 8) Weimer, H. E. et al (Am. Rev. Tuberc: 68, 31, 1953)
- 9) Bernard, E.; Kreis, B. (Rev. de la Tuberc: 15, 802, 1951)
- 10) Uehlinger, E. (Zit. Dtsch. Med. Wschr: 78, 759, 1953)
- 11) Long (Zitr. Rev. de la Tuberc: 16. 919. 1952. Zitr 結文抄速: 4(3) 177, 1953)
- 12) Stoer, K (ibid)
- 13) Lerie (ibid)
- 14) De, Séze (ibid)
- 15) Meister, L. (ibid)
- 16) Derbes (ibid)
- 17) 伊藤政一 (日, 内, 誌: 41-2, 昭 28)
- 18) 関英雄 (日, 内分泌誌: 29-5-6, 昭 28)
- 19) 長浜文雄 (日, 結, 13, 333, 1954)
- 20) Holden, M. et al (Am. J. Path: 27, 748, 1951)
- 21) Leahy, R. H. et al (J. Exp. Med: 96, 549, 1952)
- 22) Bardri, D. G. et al (Arch. Path: 51, 593, 1951)
- 23) Steen, S. A. (Brit. J. Ophth: 35, 740, 1951)
- 24) Gillete, R.; Bushubbaum, R. (Proc. Soc. Exp. Biol et Med: 83, 30, 1953)
- 25) Kaufman, N. et al (Am. J. Path: 29, 761, 1953)
- 26) Heilman, D. H. (Zitr. J. Exp. Med: 98, 551, 1953)
- 27) Paff, G. H.; Stewart, R. (Proc. Soc. Exp. Biol & Med: 83, 591, 1953)
- 28) 中村敬三 (アレルギー: 1, 224, 1952)
- 29) Dougherty, T. E.; White, A. (Proc. Soc. Exp. Biol & Med: 56, 28 1944; 57, 295, 1944)
- 30) Germuth, F. G.; Ottinger, B. (Proc. Soc. Exp. Biol & Med: 74, 815, 1950)
- 31) Bjorneboe, M. et al (J. Exp. Med: 93, 37, 1951)
- 32) Markiel, S. et al (J. immunol: 69, 217, 1952. Zitr. 粟栖. 最新医学: 9, 1260, 1954)
- 33) Dews, P. B.; Code, C. F. (ibid)
- 34) Moll, F. C. et al (ibid)
- 35) Sheldon, P. H. (ibid)
- 36) 前川孫二郎 他(最新医学: 7, 1014, 昭 27)
- 37) Pworetzky, M. et al (Proc. Soc. Exp. Biol & Med: 75, 201, 1950)
- 38) Landou, S.W. et al (Bull. Thons. Hopkins. Hosp.: 88, 395, 1951)
- 39) 白崎重信 (アレルギー: 1, 64, 1952)
- 40) Harrell, G. T. (J. A. M. A. 147, 3, 1951)
- 41) Moon, V. H. et al (Proc. Soc. Exp. Biol & Med 79, 68, 1952)
- 42) Menkin, V. (Ann. J. Physiol: 164, 294, 1951)
- 43) Robson, H. N.; Duthie, J. J. R. (Brit. J. Med: 129, 71, 1950)
- 44) 栗栖明他 (最新医学: 9, 1260, 1954)