

家兎肺臓における実験的結核性空洞の形成

その4 流動パラフィン抽出液による空洞形成

国立療養所刀根山病院 (院長 渡辺三郎博士)

山口 正民・小川 弥栄・遠藤 一男・竹内 弘之

矢坂 茂・中村 滋・山村 雄一

(本論文要旨は昭和 29 年 11 月第 9 回日本アレルギー学会総会において発表した。)

(受付 昭和 30 年 4 月 8 日)

第 1 章 緒 言

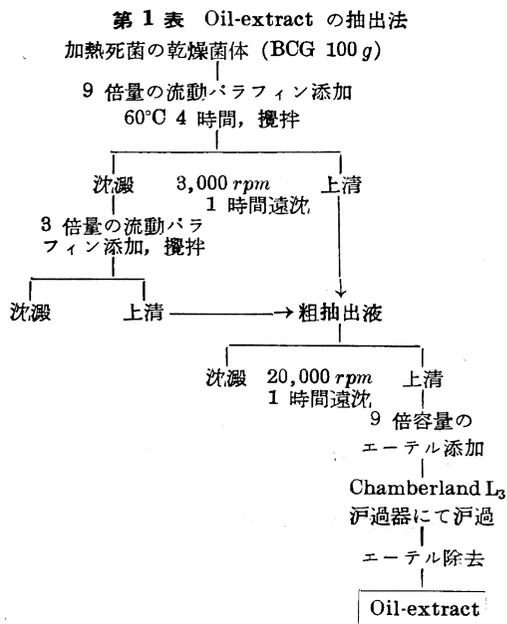
われわれは先に家兎を結核死菌で感作し、ツベルクリン反応の陽性転化を確めた後に、生菌(牛型結核菌, 三輪株)の一定量を肺臓内に直接注射することによつて、極めて高率に実験的結核性空洞を作成することに成功し、かつその空洞が病理組織学的に人間のそれと極めて類似していることを報告した²⁾。つぎに感作家兎に死菌(牛型結核菌, 三輪株)の一定量を肺内に注射することによつて、約 60% の空洞形成を認め、感作をあらかじめ行わなかつた群においては 1 例も空洞の形成を見なかつたことを報告した³⁾。

以上の結果から、われわれは空洞形成に結核抗原抗体反応(アレルギー反応)が主役を演じているものと考え、結核菌体から無細胞性に抗原を抽出しようところをみた。前報までの実験においては、肺内に注射する菌を流動パラフィンと脱水ラノリンに浮遊して使用しているので、抗原が流動パラフィンによつて抽出されるのではないかと考えて次の如き実験を行った。

第 2 章 実験方法

使用家兎は体重 2.5 kg 以上、雄の健康家兎(「ツ」反応陰性)を使用した。感作は前報の如くに行つて¹⁾³⁾、ツベルクリン反応の陽性転化を確認し、ついで二次的に抗原の 0.1 ml を直接肋間腔を経て肺内に注射した。

結核菌体から流動パラフィンを用いて生物学的に活性な物質を抽出することは、すでに Choucroun によつて企てられ、彼女は蛋白質性の感作物質と、ミコール酸の多糖類エステルを主成分とする毒性物質 PMK₁ を得ている⁴⁾。われわれも同様な方法にしたがつて、第 1 表に示す如く BCG の加熱死菌乾燥菌体(100 g)に、9 倍量の流動パラフィンを添加し、約 60 度加温の下で約 4 時



間攪拌、ついで遠心沈澱 (3,000 rpm, 1 時間) により菌体と上清を分離した後、さらに菌体を再び 3 倍量の流動パラフィンで攪拌抽出後、遠心沈澱を行つて上清を得た。この 2 回の上清を合せて Spinco L 型超遠心機を用いて、20,000 rpm, 1 時間遠沈して、透明なコハク色の流動パラフィン抽出液を得た。この抽出液中には菌体がわずかに含まれていることが考えられるので、さらに抽出液を 9 倍量のエーテルで稀釈し、Chamberland L₃ の細菌濾過器を通過させて、菌体を完全に除去し、減圧下でエーテルを蒸発除去せしめて、無細胞性の流動パラフィン抽出液を得た。つぎにこの抽出液を原液として、さらに流動パラフィンを用いて、2 倍、4 倍、8 倍稀釈液をそれぞれ作製した。

実験家兎は5群に分け、感作を行つた群を原液注射群、2倍稀釈注射群、4倍稀釈注射群、8倍稀釈注射群の4群とし、非感作群は原液のみの注射を行う群とした。いずれも0.1mlの流動パラフィン抽出液を肺内注射した。

抽出液注射後は1週間毎に胸部のX線撮影を行つて空洞形成の状況を観察した。家兎は頸動脈から瀉血致せしめ、呼吸停止に先立ち気管を結紮して、解剖の操作による肺臓の変形を防止した。ついで胸腔を開いて気管と共に肺臓を剔出し、そのまま10%ホルマリン水にて2~3日間固定した。切割して観察したのち、型の如くパラフィンに包埋し、ヘマトキシリン・エオチン染色、Mallory法による膠原線維染色、Bielschowsky法による嗜銀線維の染色などにより組織標本作製し、病理組織学的な検索を行つた。

第3章 実験成績

[1] 感作群における空洞形成

第2表に示す如く、あらかじめ結核死菌(牛型結核菌、三輪株)で感作した家兎においては、流動パラフィン抽出液の原液および2倍稀釈液の注射によつてはほとんど100%に(第1,2図参照)かつ菌体を用いた実験(既報)に比して早期に空洞の形成がみとめられる。4倍稀釈液では形成率は低下し(第3図参照)、さらに8倍稀釈液においては空洞の形成はみとめられなかつた。

[2] 非感作群における空洞型成

第2表の如く、注射後1カ月目では6例中3例に(第4図参照)、2カ月目では4例中2例に空洞の形成がみとめられた。感作を行つていない家兎に肺内注射を行つても、空洞が形成されることは興味深いことである(第4章参照)。しかし感作群に比して形成の時期も遅れ、かつ形成の率も低い。

[3] 実験的結核性空洞の病理組織学的所見

1) 肉眼的所見

形成された空洞の位置ならびに大きさは第3表の如くで

第2表 流動パラフィン抽出液による結核性空洞の形成

家番	兎号	感作*	二次抗原		肺内注射後剖検迄の日数	空洞の形成	空洞形成の家兎番号
			肺臓内注射	濃度			
OL 83~103		牛型結核菌の(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のhomogenate混合液	流動パラフィン抽出液 0.1 ml	原液	20~30日	7/8**	OL 83, 84, 87, 92, 86, 93, 94,
				2倍稀釈液	同上	4/4	OL 88, 89, 90, 91,
				4倍稀釈液	同上	2/4	OL 97, 98,
				8倍稀釈液	30日	0/4	
KCL 12~23		(-)	同上	原液	30日	3/6	KCL 21, 22, 23,
					60日	2/4	KCL 14, 17,

* 感作は第1報¹⁾記載の如く行つた

** 分母は供試家兎数、分子は空洞形成家兎数

あり、注射部位に一致して形成されている。形状はほとんど円形、楕円形であるが中には不規則の型状を示すものもあり、直径は0.5×0.5cmないし2.0×1.5cmである。空洞内面には黄白色の壊死物質が見られ、その表面は平坦なものが多く凸凹不規則なものもある。また、灌注気管支が空洞内に開口しているのを認めることもあり、(OL 97, 88, 84)空洞内に梁や櫛を形成しているもの(OL 94)もある。肺肋膜の近傍にて形成された空洞は時に半球状に胸腔内に膨隆していることがあり、(OL 87, 94)その部の空洞壁は菲薄である。空洞壁は帯黄白色を呈しており、本実験例は第1報に報告した牛型結核菌を使用した場合に比して一般に厚さが薄い。周局炎は軽微であり、空洞以外の肺野には結節の撒布も2例(OL 90, KCL 22)を除いてはみとめられない。第3表についてOil-extract原液注射群(A群)、2倍稀釈液注射群(B群)、4倍稀釈液注射群(C群)、非感作家兎に対する原液注射群(D群)において説明する。

A) 感作家兎に二次抗原としてOil-extract原液を肺内に注射した場合、注射21日ないし31日後剖検した例においては形成された空洞の大きさは大小、様々であるが時間の経過と共に拡大し、空洞壁は薄くなる傾向がある、例えば21日後に剖検したOL 92, 93の空洞壁は厚く、31日後に剖検したOL 88, 84はいずれも比較的薄い。

B) 二次抗原としてOil-extract 2倍稀釈液を感作家兎に注射し27日後剖検した例について。この場合には原液を使用した場合と比較して大差は認められない。CL 88は右側自然気胸を併発していたが、同側下葉に円形の空洞が存在していた。

C) 二次抗原としてOil-extract 4倍稀釈液を感作家兎に用い、注射23日後剖検した場合においては空洞の形状は正円形で、その壁は極めて薄く、周局炎もすくなく、注射局所以外の他の肺野に結節その他の病変など、全く見られない。すなわち人体における、いわゆる“うちぬき空洞”に酷似していると思われる。

D) 非感作の家兎に対しOil-extractの原液を注射し26日ないし60日後、剖検した場合においても第2表に示す如く、空洞の形成が見られたが、感作群と比較して肉眼的に著明な差違を挙げることは困難である。しかし形成された空洞は概して大きく、病巣の範囲は広範で、乾酪性物質が幾分多い傾向がある。

2) 空洞壁の組織学的所見

Oil-extractを肺内に注射することにより形成されたこれ等の空洞壁

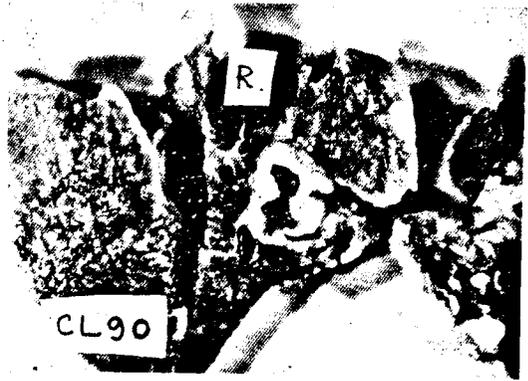
附 図

第 1 図



注；Oil Extract 原液注射 27日後の空洞

第 2 図



注；2倍稀釈液注射 28日後の空洞

第 3 図



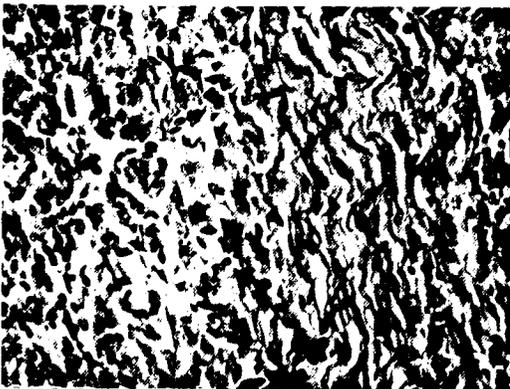
注；4倍稀釈液注射 21日後の空洞

第 4 図



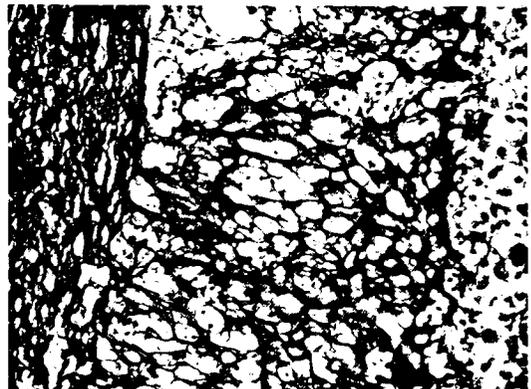
注；原液注射 30日後の空洞（非感作家兎）

第 5 図



注；原液注射 27日後の空洞壁（ヘマトキシリンエ
オジン染色）
左からリンパ球の浸潤，結合織層，壊死層の順
に配列している

第 6 図



注；同左（Bie Ischowsky-Hematoxylin 染色）
左から結合織層，肉芽層，壊死層の順に配列
している

の組織学的所見は使用された抗原の濃度、注射後の時間的経過、肺内における空洞の位置等の各種の要因により異なっている。

いずれの空洞もその内面を被う壊死層があり、この中には多数の濃縮された細胞核や核破壊物をみとめる。また、それ等に混つてもとの肺胞構造を示す肺胞中隔や動脈壁等の断裂した破片を Bielschowsky 法による銀染色により確認することが出来る。その外側にヘマトキシリン・エオジン染色にて淡紅色に染まる巾の狭い地帯があり、この地帯によつて壊死層と肉芽層とは明瞭に分劃されている。

肉芽層は内側に主として類上皮細胞、それに接して外側にリンパ球を主とする層とがあり、その他中性多核白血球、線維芽細胞、およびピロニン陽性の細胞（大部分は形質細胞で占められている）がみとめられるがラングハンス氏巨細胞は認められなかつた。その外側には壁に平行に走行する鞏固な膠原線維があり、空洞に対し結合織性の被膜を形成している。

この被膜の外側には肺胞が縮小し、胞隔が肥厚した含気量の乏しい無気肺層があり、それに続いて液性滲出のすくない非特異性の軽度の胞隔炎が見られ、次第に健康肺に移行している（第 5, 6 図参照）。

すでに述べた如く、これらの空洞は一般にその壁が薄く特異性被膜の形成も顕著でない。しかし CL 86, 87, 92 の空洞壁においては壊死層に接して部分的に特異性被膜の形成が認められ、鞏固な結合織性の非特異性被膜と共に空洞壁の一部を構成しており、肉芽層の類上皮細胞や線維芽細胞等も比較的によく見られる。これ等一部の空洞に認められた特異性被膜は空洞形成後の壊死の進行、あるいは空洞内圧の増加による空洞壁の伸展等の原因により、時間の経過と共に空洞壁より脱落、消失するものと思われる。

各群について説明すると次の如くである。

A) 二次抗原として Oil-extract 原液を感作家兎に注射し 21 日ないし 31 日後剖検した例においては一般に肉芽層は厚く、類上皮細胞も多い。また CL 83, 84, 87, 93 においては空洞内の部分的浄化が見られ、浄化された壁をおおうすでに一部分、気管支上皮の再生が認められる。

B) Oil-extract 2 倍稀釈液を注射し、28 日後に剖

検した例においてはその所見は大体前述 A 群と同様である。

C) Oil-extract 4 倍稀釈液を用い、注射 23 日後、剖検した例においては上記空洞に比べると乾酪性物質もすくなく、空洞壁内面の上皮化も認められず、肉芽層も極めて菲薄で、また他の肺野への病巣の移転等も全く見られない。

D) 非感作家兎に対し Oil-extract 原液を肺内に注射し 26 日ないし 60 日後剖検した例においては、感作群に比較して壊死層は厚く、肉芽層は菲薄で、類上皮細胞がすくないのが特徴である。空洞壁の上皮化は注射後 56 日 (KCL 14) ならびに 60 日 (KCL 17) においては部分的に認められるが、注射後 26 日の 3 匹の家兎の空洞においては見られない。

第 4 章 考 案

この報告においては流動パラフィン抽出原液によつて、感作家兎ではほとんど 100% 近く空洞が形成され

第 3 表 実験的空洞の大きさ位置およびその性状

区 分	二次抗原	肺内注射後の日数	家兎の番号	空洞の大きさ cm	空洞の部位	壁の厚さ cm	空洞内の乾酪化の程度	その他		
感 作 群	A	原	CL 92	0.5×0.5	右下葉	0.5	+	胸腔に半球状に突出空洞嚢を形成		
			CL 93	0.6×0.6	左上葉	0.2~0.5	+			
			CL 94	1.3×2.0	右中葉	0.2	±			
		液	27日	CL 86	0.6×0.8	左上葉	0.2	±	自然気胸(右)	
				CL 87	1.0×1.2	右下葉	0.2	±		
				CL 87	1.0×1.0	左 "	0.2	±		
	B	2倍稀釈	28日	CL 88	0.8×1.0	右下葉	0.2	±	自然気胸(右)	
				CL 89	0.7×1.0	左上葉	0.1~0.2	±		
				CL 90	0.8×1.6	右下葉	0.4	+		
			31日	CL 91	0.6×0.8	左上葉	0.2	++	不規則型大葉性乾酪性肺炎を伴う	
				CL 83	1.5×2.0	左上葉	0.2	±		
				CL 84	1.3×1.7	"	0.1~0.2	±		
C	4倍稀釈	23日	CL 88	0.8×1.0	右下葉	0.2	±	自然気胸(右)		
			CL 89	0.7×1.0	左上葉	0.1~0.2	±			
			CL 90	0.8×1.6	右下葉	0.4	+			
			CL 91	0.6×0.8	左上葉	0.2	++			
			CL 97	1.0×1.0	左下葉	0.1~0.2	±			
			CL 98	1.0×1.0	右 "	0.2	±			
非 感 作 群	D	原	26日	KCL 21	0.7×1.5	右上葉	0.2~0.4	++		
				KCL 21	1.5×2.0	左 "	0.2~0.4	++		
				KCL 22	1.1×1.4	右下葉	0.1~0.2	++		
				KCL 22	0.7×1.2	左 "	0.1~0.4	++		
				KCL 23	0.2×0.3	右 "	0.4~0.6	++		
		液	56日	KCL 14	1.0×2.0	左上葉	0.1~0.9	++		
				KCL 17	0.2×0.3	右中葉	0.3~0.6	+		
					0.9×1.6	左上葉	0.1~0.3	+		
				60日	KCL 14	1.0×2.0	左上葉	0.1~0.9		++
					KCL 17	0.2×0.3	右中葉	0.3~0.6		+

ているが、稀釈を行うと次第に空洞形成率が低下し、原液の 8 倍稀釈ではついに空洞が形成されなくなっている。そして感作された家兎に空洞の形成が速かに、かつ高率にみとめられること、および抽出原液を稀釈すると空洞形成率が低下することなどは、これらの実験的空洞の生成機構に抗原抗体反応が主役を演じており、かつその抗原性物質が抽出液中に存在していることを示してい

る。

Choucroun は、彼女の流動パラフィン抽出液中にはミコール酸の多糖類エステルである毒性物質 (PMK₀) と、蛋白質からなるところの感作物質とがふくまれていることを指摘している。われわれは彼女とは独立にこの抽出物中にふくまれている抗原の化学的本態を明らかにしているが後報において詳細を報告する。

興味のあることは流動パラフィン抽出物によつては、非感作の正常家兎においても空洞の生成がみられることであつて、(生成率は感作家兎に比べて低い)、これはこの抽出物自身に家兎を感作する作用が存在するためであると考えられる。非感作群では空洞の形成が、感作群に比べておそく、20 日以上を必要としているが、これは感作に要する日数だけ遅れるのであろう。

流動パラフィン抽出液によつて作られた空洞は組織学的に第 1 報において定義した結核性空洞に一致しているが、第 1, 3 報¹⁾において述べたような菌体によつてつくられた空洞に比べると次のような差異がみとめられる。すなわち、

1) 空洞形成までの期間が短いこと。家兎の胸部 X 線像を追跡しながら観察すると、感作家兎では早いときは 10 日、平均 14 日目に空洞が出現している。また肺内注射後 20 日以上を経過して剖見した例では、すでに空洞の特異被膜は脱落しており、空洞壁を形成する線維性の被膜は空洞壁と平行となつており、これらの組織学的所見は空洞形成後かなりの時間的経過を示している。

2) 病竈の範囲が一般に小さく限局性であつて、形成された空洞も菌体を使つたときよりも小さい。また周局炎や他の肺野への転移もすくない。

3) 空洞壁は菌体を使つたときよりも一般に薄い。そして肺内注射用の抽出液を稀釈するにもなつて益々うすくなつていく。したがつて臨床的に観察される“うちぬき空洞”に類似してくる。

4) Langhans 氏巨細胞の浸潤がみとめられない。な

どの特徴をあげることができる。注目すべきことは、自然気胸を併発した 2 例 (CL 87, 88) においても空洞が形成されたことで、この場合肺は高度に圧迫されていたが、そのために肺内の空洞が消失したり、変形をうけたりしていない。臨床上萎縮療法の限界を示すものである。

第 5 章 結 論

われわれは BCG の加熱死菌体の流動パラフィン抽出液が、家兎肺臓に対して、乾酪化と空洞形成作用を有することを明らかにした。空洞の形成は感作家兎においては極めて高率に、かつ速かに (14 日前後) 起る。しかし非感作家兎においてもしばしば空洞の形成がみとめられる。生成した空洞は組織学的に既報の菌体を使用して形成した空洞に類似している。空洞形成の時期と状況およびこの組織学的所見からこれらの空洞が一種の抗原抗体反応にもとづいて形成されるものであり、この場合の抗原性物質がこの抽出液中に存在していることを推論した。

終りに御校閲を頂いた院長渡辺三郎博士に深謝し、有力な御助言を賜つた岡治道博士と須田正己教授に感謝する。この研究は文部省科学研究費 (総合研究結核研究班、班長今村荒男博士) および厚生省治療研究費によつて行われた。記して謝意を表する。

文 献

- 1) 山村・矢坂・山口・遠藤・岩倉・中村・小川：結核，29，143，1954.
- 2) 中村・小川・平山・高・矢坂・山村：結核，29，205，1954.
- 3) 山村・矢坂・中村・小川・山口・遠藤・岩倉：結核，29，361，1954.
- 4) N. Choucroun: Am. Rev. Tuberc., 56, 203, 1947.