

実験的結核症における、年齢による自然抵抗性の差異について

第1報 皮下に感染させた結核菌の、臓器中の 定量培養値を指標としての観察

原 沢 道 美・前 田 道 明

吉 田 清 一

国立予防衛生研究所結核部一部長 柳沢 謙
東京大学冲中内科教室一教授 冲中重雄

受付 昭和31年3月27日

I 緒 言

結核に対する自然抵抗性が、動物の種によつて異ること、また同一種でも性、遺伝的関係等によりそれぞれ異なることは、すでに認められているが¹⁾、その自然抵抗性の本態、メカニズム等については、なお明らかではない。また一方、抗原抗体反応に基くと考えられる結核の免疫機構についても、未解決の問題が少なく、これらを含めた生体の防禦機構の解明は、今後に残された大きな課題であると思われる。

さて、結核に対する自然抵抗性の年齢による差異については、すでに Duca²⁾、Donovick³⁾、Signorini⁴⁾、高村⁵⁾、中山⁶⁾らにより指摘せられ、一般に幼若なものが成熟したものより、より結核に対する自然抵抗性が弱いとされているが、その成績は必ずしも一致していない。またその観察方法も、生存日数、病理組織所見等の検索のみにとどまり、感染菌の消長を精密に追求した仕事は未だ見当たらない。そこで著者らは、年齢の異なる3群のモルモットに実験的結核症を惹起させ、臓器中の結核菌の定量培養値を指標として、結核に対する自然抵抗性の年齢による差異を検索し、併せてこの自然抵抗性と抗菌免疫との相互関係をも追求しえたので、その結果を逐次ここに報告する。

本篇にはまず皮下感染法による実験成績を報告する。

II 実験材料および実験方法

動物：A群—生後3年半以上(体重680~940)、B群—生後6カ月(体重350~440)、C群—生後3週(体重200~210)の3群の健康モルモット17匹を実験に使用した。これらのモルモットは、いずれも感染前の10倍OTによる皮内反応は陰性であつた。なおA群は全例雌であるが、B、C両群は雄雌相半ばしている。

感染法：強毒人型結核菌H₂株を0.1mg(0.4ml)ずつ、全動物の左腹壁皮下に接種した。H₂株は冷結乾燥して

あらかじめ菌力、生菌単位数の既知のものを用い、動物1匹あたりの接種生菌数は(19×10⁵)であつた。

ツベルクリン反応の検査：感染後2週目より毎週、10倍OTの0.1ccを側腹部の皮内に注射し、24時間後の反応を観察した。

臓器内生菌単位数測定法：H₂皮下感染後6週目に全動物を屠殺剖検し、肉眼的にリンパ腺、肺、肝、脾の結核性病変を観察した。剖検と同時に、肺、肝、脾の定量培養を行いそれらの10mg中の生菌数を算定した。その方法は、臓器の一部を切除し、素焼乳針中で、1%苛性ソーダを組織重量の9倍量に至るまで加えつつ磨砕し、乳剤とする。それよりさらに10倍稀釈を蒸溜水を用いて繰り返し、適当な稀釈と思われるものを0.1mlずつ3本の小川培地に接種して培養し、1本の培地に100以下の集落数を生じた段階から臓器10mg中の生菌単位数を換算した。

III 実験成績

各群の剖検所見を示すと、表1の如くである。接種局所はいずれも膿瘍または潰瘍を形成し、各群の間に差は認められないが、リンパ腺の病変は、A群がB、C両群に比して少ない。この関係は、肺、肝、脾等の各臓器ではさらに著明で、A群ではほとんど病変の認められぬものもあるが、B、C両群ではいずれも多数の病変が認められる。しかしB、C両群の間には大差は認められない。脾臓の重量はC群が最も大きく、したがつて脾重の体重に対する比は、その差がさらに著明である。

各群の肺、肝、脾の各臓器10mg中の生菌数を表2に示した。すなわち、肺では、A、B両群の間に差はないが、C群では明らかにこれらより生菌数が多い。肝、脾では、3群の間に著明な差が認められ、いずれもC、B、A群の順に生菌数が多い。

次にツベルクリン・アレルギーの推移は表3の如くである。菌接種後2週目にはほとんど全例陽性となり、接

種後3週目あたりでは、A群が最も反応が強いが、以後A群はツベルクリン・アレルギーがやや減弱するので、5週、6週では3群の間に差は認められなくなる。しか

しA群では、硬結はあるが、B、C両群の反応のような鮮やかな鮮紅色を呈するものは少ない。

表1 皮下感染実験の剖検所見

群別		A群 (生後3年半)					B群 (生後6ヵ月)								C群 (生後3週)				
動物番号		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	
ツ・ア		20	20	22	24	19	22	21	22	21	21	19	21	17	14	17	18	27	
体重増加率		0.91	0.99	1.14	1.09	1.45	1.51	1.32	1.41	1.37	1.20	1.18	1.25	1.30	1.65	1.90	2.00	2.15	
局所		A	u	u	-	u	A	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u	
剖検所見	リンパ腺	しつべき	左右	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		そけい	左右	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		こうふく	左右	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		もんみやく		-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		きかん		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
内部器官	肺		-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	肝		-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	脾		-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	脾重(g)		1.6	2.0	1.4	1.8	1.7	1.8	2.0	2.0	2.7	1.4	1.6	2.7	1.0	1.6	2.4	3.7	2.5
	脾重(%) / 体重(mg)		0.18	0.26	0.16	0.24	0.17	0.34	0.40	0.34	0.56	0.29	0.30	0.49	0.17	0.48	0.60	0.92	0.58

注 {A. 濃瘍, u. 濃瘍, リンパ腺の腫瘍} (+) 小豆大, (++) 大豆大, (+++) 大豆大以上, (内部器官病変) (+) 小多数の結節, (++) 小多数の結節, (+++) 小多数の結節, (結節の数) 結節の数

表2 皮下感染実験の培養成績

群	動物番号	臓器 10mg 中の生菌数		
		肺	肝	脾
A群 (生後3年半)	1	0	1	0
	2	0	0	1
	3	23	7	99
	4	6	3	92
	5	0	2	0
B群 (生後6ヵ月)	1	0	15	1070
	2	c	18	425
	3	2	8	120
	4	1	91	666
	5	42	47	117
	6	0	36	1370
	7	1	150	170
	8	0	1	63
C群 (生後3週)	1	500<	1620	1730
	2	35	1070	2800
	3	105	173	2500
	4	102	67	210

表3 ツベルクリン・アレルギーの消長

群	No.	週				
		2	3	4	5	6
A群	1	17	24	15	26	19
	2	16	24	25	23	20
	3	17	31	22	23	22
	4	20	32	25	27	24
	5	0	20	18	19	19
平均		14	27	21	24	21
B群	1	14	15	18	23	22
	2	15	16	17	18	21
	3	15	15	18	26	22
	4	15	18	17	21	21
	5	15	21	21	23	21
	6	13	20	18	22	19
	7	15	19	19	24	21
	8	15	23	21	20	17
平均		15	22	19	22	20
C群	1	11	21	18	21	14
	2	13	21	16	19	17
	3	13	20	18	19	18
	4	13	18	17	24	27
	平均		13	20	17	21

IV 総括ならびに考察

Duca²⁾は、新生モルモット、生後15日、1カ月、1年半、および4年半以上の5群のモルモットにつき、主に菌接種後の生存日数を指標として、結核に対する自然抵抗性を観察し、このうち新生モルモットのみが他の群と比較して、明らかに結核に対する自然抵抗性が弱い、その他の群の間には有意な差は認められなかったとしている。しかし臓器中の生菌数を指標とした著者らの成績では、上述のように、生後3年半、生後6カ月、生後3週のモルモットの順に、結核に対する自然抵抗性が強いことが認められた。

この3群のモルモットは次のような特徴がある。すなわち生後3週 of モルモットは離乳直後のもので生殖機能の未だ發育しないもの、また生後6カ月のモルモットは、生殖機能の旺盛になる時期のもので、また日常最も実験に使用されているものである。生後3年半のモルモットは、生殖機能が衰える時期のもので、以上の如くモルモットの一生のうちでその最も重要な機能の一つである、生殖機能の差を基にして、3群を選んだ。これをそのまま人間にあてはめることはできないにしても、以上の成績と、従来から指摘されている小児結核の特殊性とを考え併せると興味がある。さらに人間の場合、漸く問題になりつつある壮老年結核に関しても^{7,8)}、その特徴的な種々の病像が理解されうるのではないかと思われる。

高村⁵⁾は、体重100g前後の幼若モルモット、および体重400g前後の成熟モルモットの2群のモルモットの腹壁皮下に、人型結核菌を接種し、その後2, 3, 4週 of 3回皮下結核病巣を病理組織学的に検索し、幼若動物では白血球性膿瘍性病巣が凝固限局化する傾向が多いのに反し、成熟動物ではそれが軟化崩壊して潰瘍を形成する傾向が著明なことを報告している。それ故、この場合接種された菌の臓器への浸入状況が3群で異なるのではないかと、まず考えなければならぬと思われる。そこで著者らは、この点に留意して、接種局所および所属リンパ腺の所見を経過を追って精細に検討したが、3群の間に大差は認められなかった。それ故、上述の実験成績は、臓器内に浸入した菌の増殖、死滅の推移が、3群によつてそれぞれ異なることを主に示しているものと思われる。また著者らは、これらの因子を完全に除くため、静脈内径路によつて菌を直接臓器に散布させ、臓器培養法により定量的に菌の消長を追求する方法によつて、結核に対する自然抵抗性の年齢による差を観察した⁹⁾、この場合にも、年齢によりその成績が異なり、上述の見解を裏付ける成績がえられた。

次にツベルクリン・アレルギーの消長は、100倍OTのみを用いた著者らの成績では、3群の間に大差は認められず、ただ感染早期に、A群のみが強いアレルギーを示す所見がえられたのみである。この点については、さらに実験を重ねる必要があらう。しかし、A群ではB, C両群と異り、鮮紅色を呈するものが少なかった点より、特にA群では、ツベルクリン・アレルギーの消長が皮膚そのものの性状に左右される点が少くないと思われる。

V 結 語

A群(生後3年半以上)、B群(生後6カ月)、C群(生後3週)の3群のモルモットの左腹壁皮下に、人型結核菌H₂株の0.1mg (Vu 19×10⁵)を接種し、6週後剖検し、それぞれの肺、肝、脾の各臓器中の結核菌の定量培養値を指標として、結核に対する自然抵抗性の年齢による差異を検索した。3群の間に明らかな差が認められ、A群、B群、C群の順に結核に対する自然抵抗性が強い。なお、ツベルクリン・アレルギーは、感染後早期ではA群が最も強いが、その後A群ではややツベルクリン・アレルギーが減弱するので、感染後5週、6週では、3群の間に差は認められなくなる。またA群では、B, C群にみるような鮮紅色の反応を呈するものは少ない。

(御指導、御校閲を贈わつた柳沢部長、沖中教授、尼子医師長、および種々御協力をえた仲本、松山、小山の諸氏に深く感謝する)

文 献

- 1) Rich, A.R.: The pathogenesis of Tuberculosis. Charles C. Thomas. 1951.
- 2) Duca, C.J.: Am. Rev. Tbc., 57: 389~399, 1948.
- 3) Donovick, R. et al.: Am. Rev. Tbc., 60: 109~120, 1949.
- 4) Signorini, L.F. & Benelli, S.: Giornale di Batteriologia e Immunologia. XLVII-7-8, 294~302, 1955.
- 5) 高村了助: 結核, 13: 268~274, 昭10.
- 6) 中山 幹: 結核, 10: 267, 昭7.
- 7) 石原 国: 日本臨床結核, 12: 718, 昭27.
- 8) 原沢道美・吉田清一: 結核, 30: 132, 165, 332, 376, 昭30.
- 9) 原沢他: 結核, 次号.