

## 結核性肺空洞の菌と組織細胞化学

## (第 II 章)

小林 周

国立愛知療養所 (所長 久野 馨)

(指導 名古屋大学医学部病理学第一講座 宮川正澄教授)

(指導 名古屋大学医学部内科学第一講座 日比野進教授)

受付 昭和 32 年 3 月 27 日

## 緒 言

前章で述べた空洞壁化膿膜層の游出細胞が示す菌との関連における諸々の組織化学的な成績はいわば生体反応の時間的な一断面であつてこれらを整理して見ても経時的な推移を窺うには必ずしも満足すべき拠りどころとはならない。時間的な一断面として捕えられたこれらの反応がどのように推移してきてまた如何ように展開してゆくかは動物実験によつて観察し初めてその動態の全貌を把握することができる。この意味において菌を動物の気道内に注入して肺胞内に滲出する諸細胞の組織化学を菌との関連において観察した。

## 1. 実験方法ならびに研究対照

実験動物はモルモットを使用, 体重300ないし400g のもので Römer 反応陰性のものを選択。使用結核菌は青山B株。20mg per cc 青山B株均等浮遊液1ccをモルモットの気管内に注入し経時的に1群として数匹ずつを撲殺し滲出炎を惹起している部分の肺を塗抹またはスタンプを作り肺胞内滲出細胞についてアルカリ性GP, 酸性GP, ATP ase, PAS染色, Rhodamin-Auramin染色を施行, その要領は前項に述べたと同じ方法で実施した。経時的には4時間, 24時間, 48時間, 72時間, 96時間, 8日, 15日, 28日である。

## 2. 実験成績

## ① 4時間目

滲出細胞は主として好中球, 一部炭粉を含有する大単核細胞である。菌はほとんど好中球に含有せられ遊離状態のものを認め難い。好中球で菌を含有しているものでは al. GP. の陽性度は ⊕, ⊕, ac. GP. は ⊕, ⊕, ATP ase は ⊕, ⊕, PAS 陽性物質は ⊕, ⊕, 菌を含有しない好中球では al. GP. ⊖ を主とし ⊕, ⊕ のものも時に ⊖ のものの混在を認める。ac. GP., ATP ase も大体同様の成績を示している。PAS 陽性物質はほとんど ⊖ で極く稀に ⊕, ⊕ を認める。大単核細胞は数は好中球に比して非常に少ないがほとんどすべて菌を含有し al. GP. は ⊕, ⊕, ac. GP. ⊕, ⊕, ATP ase, ⊕, PAS 陽性物質は ⊕ を示している。

## ② 24時間目

游出細胞は未だ好中球が圧倒的に多いがこのころはかなり単球の参加が見られるようになる。好中球は依然菌を数匹ないし10数匹含有し大単核細胞も同様数菌を含有している。この時の好中球の al. GP. は ⊕, ⊕, ac. GP. ⊕, ⊕, ATP ase ⊕, ⊕, PAS 陽性物質 ⊕, 大単核細胞は al. GP. ⊕, ⊕, ac. GP. ⊕, ⊕, ATP ase ⊕ または ⊖, PAS 陽性物質は ⊖, また菌を含有する単球では al. GP. ⊕, ac. GP. ⊕, ATP ase ⊕, PAS 陽性物質 ⊕ を示している。

## ③ 48時間目

游出細胞の質的変動が目立つてくる。すなわち好中球は数が減少するのみならず核破壊像を認め単球の増加が主となつてくる。好中球で菌を含有するものは激減し単球が主として菌を含有している。この時の単球の al. GP. ⊕ または ⊖, ac. GP. ⊕ または ⊖, ATP ase ⊕ または ⊖, PAS 陽性物質は ⊕ または ⊖ を示している。

## ④ 72時間目

游出細胞はほとんど単球で遺残好中球の少数を見る。遺残好中球は変性像を認め菌を含有していない。単球がすべて菌を含有しこれらの単球の al. GP. はほとんど ⊖ 少数 ⊕, ac. GP. でも同様ほとんど ⊖ 少数に ⊕, ATP ase でも ⊖, 少数 ⊕, PAS 陽性物質では微弱陽性または ⊖ を示している。

## ⑤ 96時間目

72時間目同様游出細胞はほとんど単球で極く少数の遺残好中球を混している。菌はすべて単球が含有しこのものの al. GP. ⊖, ac. GP. ⊖, ATP ase ⊖, PAS 陽性物質は微弱陽性または ⊖, 遺残好中球の al. GP., ac. GP., ATP ase すべて ⊖ である。この時の単球は原形質の膨化の徴を認めやや変性の傾向を示している。

## ⑥ 8日目

游出細胞はことごとく単球である。含有する菌数は非常に多く中には松葉状に枝分れしている菌を認めるものがあり細胞体内で増殖を行つていると判定せられる現象が起る。単球の型態も膨大化し al. GP., ac. GP., ATP ase, PAS 陽性物質はことごとく陰性を示している。

## ⑦ 15日目

いままで細胞に含有せられていた菌は細胞外にも認められるようになり菌体は個々遊離状を呈している。同時に再び多数の好中球が遊出をしており菌を数匹含有し始めているものを認める。単球は多くの場合菌を含有していない。型態は著明に変性崩解したものを認めない。この時の単球の al. GP. は $\ominus$ , ac. GP. も $\ominus$ , ATP ase も $\ominus$ , PAS 陽性物質も $\ominus$ , 再遊出した好中球は al. GP.  $\oplus$ ,  $\oplus$ , ac. GP.,  $\oplus$ ,  $\oplus$ , ATP ase  $\oplus$ ,  $\oplus$ , PAS 陽性物質は $\oplus$ ,  $\oplus$ を示している。

## ⑧ 28日目

乾酪化を認めるものがあり遊出細胞は変性崩解し鑑別は困難である。菌は認め難いものありまたは非常に少数認めるものがある。この乾酪物の al. GP., ac. GP., ATP ase は陽性のものと陰性のものがある。

## 総括と考案

## (I) 空洞壁化膿膜層における細胞構成と菌の態度

好中球と大単核細胞を主としている点では全く同一である。しかし菌を含有する所見はW型では少数かつばらばら単独状のものを含有しZ型ではやや多数の菌を含有する。ところがD型においては著明な二叉、松葉状を呈した菌型を多く認めるようになり果ては叢状をなす菌所見に接する。元来遊出細胞は菌を貪食し消化処理する能力を持って遊出するものであるが生体の抵抗力の退潮に伴って菌が活発な増殖を起す時は逆にこれらの細胞が一時的にはむしろ培養基的な温床を賦与することがあるという事実を示している。そして早晚細胞の変性崩解したものを混ざるようになる。これらの過程において細胞の遊出を醸す物質の生成はさらに新たな細胞の遊出が行われ反復菌と炎症性物質の処理に対する反応が繰返えされるものと考えられる。生体の抵抗力が菌増殖に打勝つようになれば菌の消失はかなり速やかに行われるものと考えられる。すなわちD型、Z型、W型において見られる細胞構成の所見は余り相違がない。恐らく菌以外の炎症性物質においても菌の少ないW型のみ特に多く存在するとは考えられないからである。

## (II) 空洞壁の組織化学

## (1) 脂肪染色

D型、Z型、W型、すべてにおいて乾酪層と特殊肉芽層との境界面に最も粗大で最も多量存在する分布性を示すこと。細胞が変性崩解しすなわち壊死に陥って次いで乾酪化して行くこの過程の中に中性脂肪は認められないことを示している。しかし類上皮細胞の存在する附近の乾酪巢内においては多量の中性脂肪が証明せられることはこれの生成がこの場所において最も旺んであると考えなければならない。Rosenthal は脂肪は乾酪化の起源と関係があるようだといひ進展する乾酪巢内には脂肪はな

いかあるいは極くわずかに存在する。しかし丁度乾酪巢の境界には fatt-bearing cell が見られると述べている。また B'abes は乾酪巢においては Cholesterol ester と脂肪酸およびその Ca 塩を証明し中性脂肪は単核細胞の侵入に由つて形成せられるときにのみ表われるものであることを述べている。Vallillo は鳥結核の研究中、壊死巢のない結核結節には類上皮細胞も巨細胞も脂肪を見ることがないことを観察している。中性脂肪生成の機序については詳らかにしえなかつたが単核細胞類上皮細胞の同一系列の細胞によつて崩解した細胞の lipoids から生成せられるならば上記配列の同一性は充分うなづかれる点であるし、したがつて空洞壁が完全な型態をとつている限りにおいてはD型、Z型、W型についても差異が認められないのが当然である。しかしながら化膿膜層においては多菌を認めるD型、Z型においては微細ながら顆粒状滴を認めW型ではほとんど認めえないのは多菌に伴う細胞の崩解、壊死の多きことと、したがつて上記のような局所的な関連の成立をうるためのものと解釈すれば理解せられる。

## (2) al. GP. および ac. GP.

これら酵素反応の最も旺盛な場所は修復機転に参与する肉芽織においてである。特に血管内皮細胞と線維細胞に最たることを認める。Z型、W型によつて影響を受けることはなくいずれの場合にも強陽性反応を証明しうる。化膿膜に遊出している好中球と大単核細胞に陽性を証明しうるか陽性度はZ型とW型と比較するとW型において強い所見を認めるのは菌含有の少ないことによる。このことに関しては後に詳述するところである。乾酪層をみるとZ型でもかなり多菌のものにおいては酵素反応は陰性であるがW型の少菌群では陽性所見を呈しているものがある。乾酪層における酵素反応の起源は武内氏も述べられているように好中球由来を主とし次いで単球由来の混合である。これらの細胞が嘗む新陳代謝の一環の機能面を担う該酵素は細胞の崩解と共にそれぞれの細胞が持つ代謝系列は当然細胞と共に崩解するのであるが部分的な解磷反応の遺残は充分ありうるところである。もちろんこの反応はアルカリ域、中性域、酸性域においてかつそれぞれ至適の幾つかの山のpH域が存在している。同時に磷結合に対する種々なる特異的な選択性をも持ちしたがつて基質の配合の変動も解磷反応の質的量的な差異を生ぜしめる筈である。多菌の存在する環境下のフォスフォモノエステラーゼが陰性で少菌に変化した環境下で陽性化するの該酵素の消長とのみ考えるよりも活性の変動を加味して考えた方が妥当のようである。すなわちpHの変動あるいは阻害因子、あるいは賦活因子の変動に伴う活性化、陰性化であると考えたい。

## (3) 組織等電点

Z型、W型の化膿膜において正常な好中球の等電点は

pH 5.0~5.2の範囲内で著差はない。正常な型態をとる限りにおいては変動を起さないのが普通である。しかし一旦崩解し乾酪化を起した場合においては pH の変動は 0.4~0.2 の僅小ではあるが明らかに強い酸性域への移行が証明せられる。一方 Z 型, W 型における乾酪層の組織等電点の変動は惹起せられない。凝固蛋白の顕著な質的变化なくして菌の消長を見ることができるといことが考えられる。

#### (4) 化膿膜游出細胞の al. GP., ac. GP., ATP ase, P A S 陽性物質 (動物実験の観察も含めて)

好中球や単球に証明せられる al. GP., ac. GP., ATP ase についてはすでに武内, 大島氏らも述べられたようになりかなり生理的な変動を認めることができる。第 1 に年齢による変動である。幼年期から老年期にかけて次第に減少するのが通常である。しかし個体差がまたかなりあつて必ずしもこの原則通りとは限らないことがある。今回対照の空洞塗抹の患者は年齢的には大体青年期で 22 才から 35 才までの人が主で 40 才前後の者を少数含む状態である。第 2 には性別による変動である。特に女性は月経による変動が著明であるので女患は対象から除外し男性を選んである。第 3 は食餌との関係であるがこれは手術という同様の条件下におかれてあつて全部空腹時に施行されてある。したがつて生理的な変動は相当見込まれなければならないが本研究の対象は大体において同一条件下にそろえられて実施したわけである。W 型における菌含有好中球の al. GP., ac. GP. の陽性度百分率で  $\text{H}$  が 0 であり菌を含有しない游出好中球の内には相当数の  $\text{H}$  を認める。 $\text{H}$ ,  $\text{+}$  は生理的な変動範囲であるが  $\text{H}$  と  $\text{+}$  の比率では  $\text{H}$  の減少が明らかである。この点から菌を含有することによつて菌を消化処理するために本機能は充進するだろうとの予測とは逆に反つて減少している傾向を認めることになる。この事実は動物実験による結果でも明瞭である。すなわち 4 時間, 24 時間後の反応に主役を演じている菌貪喰好中球の内に  $\text{H}$  を 1 つも証明することができない。また菌を含有して陰性を呈する細胞群がある。これも生理的なものにも少数認められるところであることは宇都宮, 服部氏らによつても指摘せられているがその意義について著者はこれを詳らかにしえないとしても陰性化の増大を認めないわけにはいかないほど多い。このことは上の事実とも関連して酵素反応の減少を証明するものといえよう。これは ATP ase についても同様のことが立証せられる。さらに比較的多菌を見る Z 型の場合においては一層このことが明瞭になる。すなわち菌含有によつて W 型よりも比較強い炎症の環境下と相俟つて陽性細胞は激減し細胞の変性崩解の過程と相伴つて陰性化の著しい増大はこの間の立証に充分である。次いで単球については生理的条件下の反応では陽性を呈するかまたは陰性である。これが空洞化膿膜層において

はまず W 型の場合には少数であるが菌含有と相俟つて陽性度の増大したものを認める。と同時に数多くの陰性化したものもまた認められる。比較的多菌の Z 型においてはほとんど陰性化したこの傾向は好中球と同様な推移を示している。しかしながら炎症の環境下に一時的にも反応の増強が認められることは好中球との相違である。W 型の場合において上記の菌を含有したものの他に菌を含有しない細胞の 1 群にかなり強い陽性を呈する大単核球を認めた。この場合の単球の型態は小型のものと大型のものに大別できるが小型の単球は菌を含有することは稀有で主に大型のものが菌を含有している。陽性度の強さは小型のものが強くかつ多い。大型のものは比較して弱い。菌を含有すると否にかかわらずある時期かある条件下に増強の傾向を示すのは明らかに機能の充進がある証拠であるが生理的には利用されない代謝過程が多く要求されるようになったか、あるいは新たな新陳代謝機構の参与の一環として増強されたものかそのいずれかであろう。しかしながら菌を多数含有するかなおかつ動物実験に示されるように細胞内で菌が増殖し始めるようなはげしい炎症の環境下では順次陰性化してしまう。この点に関しては好中球と全く同じ運命をたどるけれども細胞と菌が相互に干渉し合いながら微妙に平衡関係を成立せしめて行く期間の問題については好中球と単球では非常な相違があることが分る。時に単球においては菌を含有した最初に反応充進し次いで減少陰性化し菌の細胞内増殖時期に至れば全く陰性化してしまう。にもかかわらず細胞の型態は余り損われぬ所見に関しては単なる反応の陰性化として取扱われるのみでなく菌の増殖に結びつく菌の代謝と細胞の代謝との共軌現象も考えられるのではなからうか。もちろん菌体を合成する謂わば蛋白合成に al. GP., ac. GP. は直接結びつかないにしても ATP ase 等においては RNA, DNA のホスファターゼおよびフォスホリラーゼ等の分解, 合成反応機構の一環としては当然関与するものとして考えられてよいものと思う。次ぎはこれら酵素の局在性についてである。最も生活状態に近い形を捕えることが理想であつて同時に酵素反応を温存する手段が選択されなければならない。がいずれにしてもこの問題は検索以前のことであつて検索の方法論に対する考案に外ならない。局在性に対して影響を与える因子としては第 1 に酵素の拡散がある。Jacoby and Martin が述べている如く死後の組織内でも容易に拡散を起す。この点については術後速やかな操作と前記した如き適切な固定法を利用すれば問題ではない。第 2 は酵素の核吸着説がある。Feigin et al は核に強い反応を示すことがあるのは酵素の核吸着と見做しているが武内氏の実験では酵素の拡散に際して他組織の原形質にも核にも反応が現われ特に核のみに選択的に吸着することは認められないと述べている。第 3 は磷酸塩の

拡散と吸着の問題である。磷酸カルシウムとして沈着せしめたものが酸性水に遭遇すれば容易に酸性磷酸カルシウムとして溶出する。この現象が拡散の理由である。したがってこの現象を防止するためにはカルシウムイオンが多いか pH が酵素反応の至適域からむしろアルカリ側に例えば pH 9.1が至適ならば9.3ぐらいにおいて実施した方がよく沈着することができることになる。第4は自家基質酵素反応であるがこれは基質を使用しない対照実験で明瞭になるが血球ではほとんど問題とするに足りない。組織では自家基質の存在カ所に証明せられて特に混乱することはなかつた。このような非特異的現象を除外するための吟味を加えた上記方法論において全く同一の条件下に菌含有に伴う局在性の種々相を検討することは有意義でこそあれ理論的整理の不可能事ではないと考えられる。ここで見られる al. GP., ac. GP. とは全く同様な分布態度をとっているが ATP aseは上記Pに比して幾分微細な観がある。2, 3の例外はあるが菌存在カ所には酵素反応が減少し勝ちな傾向があるように思われる。また特に核に吸着した如き所見もないようである。菌を含有することによつてHに見られるような団塊状酵素反応はないところから顆粒の細化が起るかも知れない。

## 結 論

① 空洞壁菌出現のD型、Z型、W型の各場合において化膿膜に游出している細胞構成は著明な差異を認めることができないが菌含有状態はD型やZ型のある物においては菌が細胞内増殖を行っているものがある。しかし少菌群においてはほとんど見ることができない。

② 空洞壁における中性脂肪分布は乾酪層と類上皮細胞層との境界に最も多く粗大顆粒状を呈し乾酪層は微細顆粒状であり多菌群、少菌群いずれも相違はない。ただ化膿膜層において多菌群は少菌群に比しやや多く存在するのを認める。

③ 空洞壁化膿層と乾酪層との組織等電点はそれぞれ pH 5.0~5.2と pH 4.7~4.9の移行値を示し多菌、少菌によつてこの著差は認められない。

④ 空洞壁の al. GP., ac. GP. は多菌群、少菌群共に非特殊肉芽層に最も著明で菌の多寡に影響を受けない。乾酪層においては少菌の場合陽性を呈することがときどきあるが多菌の場合にはほとんど陰性である。

⑤ 化膿膜に游出する菌非含有好中球と単球の al. GP., ac. GP., ATP ase, PAS陽性物質は多菌群においては陽性度の減少が著明で少菌群においては軽度である。

⑥ 多菌群、少菌群共に化膿膜游出菌含有好中球と単球の al. GP., ac. GP., ATP ase, PAS陽性物質は減少する傾向を認める。ただし単球においては菌含有後間もなく一過性に増強することがある。

⑦ 好中球、単球の al. GP., ac. GP., ATP ase と

PAS陽性物質とは大体平行的に消長するが減少する場合好中球においてはPAS陽性物質がホスファターゼに比しやや長く遺残する傾向がある。

⑧ 単球原形質内において菌増殖を見る場合原形質は膨化しホスファターゼは全く陰性化する。

⑨ 多菌を証明する急性のはげしい炎症の場においてはホスファターゼは減少または不活性化する。しかし菌が減少してきた場合には細胞または組織の崩解部において再び証明せられ活性化のおこることが認められる。

⑩ 好中球、単球共に菌を含有した場合原形質内の al. GP., ac. GP., ATP ase の分布は菌の存在カ所附近は少なくややはなれて存在する傾向が多く、かつ酵素顆粒の細化が認められる。

稿を終るに当たり本研究の御指導と御鞭撻を戴いた恩師宮川正澄教授および日比野進教授に厚く御礼申し上げます。なお終始御援助を賜った国立愛知療養所長久野馨博士、ならびに種々御教示をお寄せ戴いた熊本大学医学部武内忠男教授に感謝の意を表したいと思います。研究期間を通じ絶大な御協力と友情を示された名大第一病理学教室および国立愛知療養所の先輩、同輩の諸賢兄にも厚くお礼申し上げます。

## 文 献

- 1) 天野重安：血液学の基礎。
- 2) W. Pagel : Hand. d. sp. Path. An. u. Hist., III/2, 1930.
- 3) 赤堀二郎他：酵素化学の進歩, 第II巻。
- 4) 江上不二夫：化学の領域, 第I巻, 昭22.
- 5) G. Gomori : Microscopic histochemistry Principles and Practice, 1950.
- 6) 神前武和：酵素学。
- 7) Jean Roche : The Emzymes (Phosphatases), Vol. 1: 473, 1950.
- 8) Lison, L.: Histochimie et Cytochimie Animals (今泉正訳)。
- 9) David Glick : Advances in Emzymology, Vol. 9: 585, 1949.
- 10) Fritz Lipmann : Advances in Emzymology, Vol. 1: 99, 1949.
- 11) 高松英雄：日病会誌, 29: 492, 昭14.
- 12) 高松英雄：東京医誌, 3161, 8, 昭14.
- 13) 高松英雄：東京医誌, 3169, 7, 昭14.
- 14) 高松英雄：東京医誌, 3176, 525, 昭15.
- 15) 高松英雄他：満洲医学雑誌, 37: 215, 昭17.
- 16) 武内・石川：医学と生物学, 10: 117, 昭22.
- 17) 武内忠男：熊医会誌, 23: 40, 昭24
- 18) 前田和博：医学と生物学, 15: 318, 昭24.

- 19) 久保・武内：日病会誌, 38: 192, 昭24.
- 20) 久保・高松：日病会誌, 40 (総会): 1, 昭26.
- 21) 武内忠男他：東京医誌, 68 (8): 11, 昭26.
- 22) 武内・田上：日病会誌, 39(地方): 162, 昭26.
- 23) 中川 周他：日病会誌, 40(地方): 177, 昭26.
- 24) 田島洋一：熊医会誌, 26: 71, 昭27.
- 25) 田島洋一：熊医会誌, 26: 85, 昭27.
- 26) 田島洋一：熊医会誌, 26: 110, 昭27.
- 27) 藤原潤三：熊医会誌, 26: 52, 昭27.
- 28) 藤原潤三：熊医会誌, 26: 62, 昭27.
- 29) 田島潤三：熊医会誌, 26: 110, 昭27.
- 30) 武内・那須：医学と生物学, 25: 74, 昭27.
- 31) 武内忠男他：医学と生物学, 19: 316, 昭26.
- 32) 武内忠男他：熊医会誌, 27: 194, 昭28.
- 33) Krugelis, E.J. : Biol. Bull., 90: 220, 1946.
- 34) Dempsey, E.W. and Wislocki, G.B.: Am. J. Anat., 80, 1, 1947.
- 35) Danielli, J.F. : J. Exptl. Biol., 22: 110, 1946.
- 36) 久保・武内：結核, 28: 685, 昭28.
- 37) 久保・中川：日病会誌, 42(総会): 259, 昭28.
- 38) 武内忠男他：医学と生物学, 26: 224, 昭28.
- 39) Mannheim, L.H. and Seligman, A.M.J. : J. Natl. Cancer Inst., 9: 181, 1948.
- 40) 高松・井崎：日病会誌, 41 (地方会): 343, 昭27.
- 41) 高松・井崎：日病会誌, 42(総会): 261, 昭28.
- 42) 高松・西：日病会誌, 43 (総会): 546, 昭29.
- 43) Martin, B.F. and F. Jacoby : J. Anat., 83: 351, 1949.
- 44) Feigin, I., Wolf, A. Kabat, E.A. : The Am. J. Path., 16: 647, 1950.
- 45) Novikoff, A.B. : Science, 113: 320, 1951.
- 46) Harald Moe : Anat. Record, 112: 217, 1952.