

# モルモット肺臓における実験的結核性空洞の形成

(第 1 報)

竹内 弘之・高 啓一郎

国立療養所刀根山病院 (院長 渡辺三郎博士)  
大阪市立大学刀根山結核研究所 (渡辺三郎教授)

受付 昭和31年9月18日

## 第1章 緒 言

人間以外の動物に自然感染によつて空洞が形成せられたという事実は余り報告せられていない。ただわずかにウシ、モルモットなどの肺臓に空洞が稀に発生すると報告せられているにすぎない。ウシについては Nieberle<sup>1)</sup> や Wall らが、モルモットについては Raebiger and Lerche<sup>2)</sup> が報告しているがいずれも全く偶発的なものである。また動物に実験的に空洞を作製しようという試みも古くから行われているが大多数は失敗に終つている。古く Baumgarten<sup>3)</sup> はウサギについて空洞の形成をみとめ、Römer, Orth<sup>4)</sup>, Schröder, Josephらはモルモットを人型菌で感染せしめた後に結核菌を再感染させると肺臓および肝臓に空洞が形成せられることを認めた。本邦においても青山(敬)<sup>5)</sup> はウサギの扁桃腺に人型菌を注射して肺臓に空洞の形成をみとめ、武田および新保<sup>6)</sup> らはウサギの経気道感染によつて肺臓に空洞が形成せられ、その際アドレナリンの投与によつて乾酪化ならびに空洞の形成率が増強せられるといつている。また Henry phipps<sup>7,8)</sup> 研究所において組立てられた経気感染用 (airborne infection) の装置を用いて行われた実験によつて比較的高率に空洞の形成に成功している。すなわちウサギを予め加熱死菌を用いて免疫しておくか、あるいは少量の牛型結核菌毒力株を吸入させ、一定の期間を経た後、再び気道性に感染を行わせると再感染後数カ月を経て、空洞が形成される。この方法ははじめから実験的に慢性型の肺結核を動物にひきおこすことを目的としており、しかも予め動物を結核菌で感作している点に興味の深いものがあるが、空洞形成に長期間を必要としているので実際に応用するのには不適當であろう。最近山村ら<sup>9,10)</sup> がウサギの肺臓に結核性空洞を作成する方法を発表したがわれわれも偶発的でなく短期間に高率かつ確実に結核性空洞をモルモットにおいても作成したいと考えて次のような実験を行つた。

## 第2章 実験方法

### (1) モルモットの結核菌による感作

動物は体重約450~600g のツベルクリン反応陰性の成

熟モルモット(雌雄を問わない)を選び、次のような組成を有する混合液の0.3ml を1週間間隔2回に亘つて大股皮下外側に接種し、ツベルクリン反応を陽転せしめる。使用結核菌は人型結核菌(H<sub>37</sub>Rv株)および鳥型結核菌(竹尾株)で Sauton 培地にそれぞれ3週間および1週間発育したものである。

注射に使用した混合液

結核菌 100°C 30分 加熱死菌……750mg (湿量)  
流動パラフィン…………… 10ml  
脱水ラノリン…………… 5ml

### (2) 二次抗原の調製法ならびに肺臓内注射

#### i) 人型結核菌(H<sub>37</sub>Rv株)生菌

Sauton 培地に10~14日間発育したものの一定量(湿量)を流動パラフィン3容、脱水ラノリン1容の混合液に浮遊して抗原とする。

#### ii) 人型結核菌(H<sub>37</sub>Rv株)加熱死菌

Sauton 培地に2週間発育したものを100°C 30'加熱滅菌し、その一定量(湿量)を流動パラフィン3容、脱水ラノリン1容の混合液に浮遊して抗原とする。

#### iii) ツベルクリン蛋白質

戸田の方法<sup>11)</sup>にしたがつて Sauton 培地培養10~12週目の人型結核菌(H<sub>37</sub>Rv株)を100°C 30'加熱滅菌し、その培養濾液より蛋白質 S 割分を分離し、一定量を流動パラフィンに浮遊して抗原とする。

#### iv) リポ蛋白質

Folch の方法にしたがつて Sauton 培地に発育した人型結核菌(H<sub>37</sub>Rv株)ならびに鳥型結核菌(竹尾株)の100°C 30'加熱死菌よりリポ蛋白質を抽出し、その一定量を流動パラフィンに浮遊して抗原とする。

以上の如く調製した二次抗原の流動パラフィン、脱水ラノリン混合液(ただしリポ蛋白質とツベルクリン蛋白質は上記の如く流動パラフィンのみで溶解したもの)の0.1ml を感作を行つてツベルクリン反応が明らかに陽性となつたモルモットならびにツベルクリン反応が確実に陰性の正常モルモットの胸壁肋間を通じて直接両側の肺臓内に注射し、動物の一般状態を観察しながら約20~30日目に頸動脈よりの瀉血によつて致死せしめて剖見に供した。

## 第3章 実験成績

## A 結核性空洞の形成

## 1) 菌体を用いた場合の空洞形成

表1に示す如く予め加熱人型結核菌で感作を行つた後に人型結核菌生菌(湿量)0.1mgを注射した場合には肺臓内注射後約1ヵ月して9例中4例に空洞の形成を認め(図1参照),感作を行わずに肺臓内注射のみを行つた非感作群においては5例中1例に空洞の形成を認めたとす

ぎなかつた。同様に加熱死菌(湿量)1mgを用いた場合には,感作群においては14例中7例に(図2,3参照),非感作群においては全例に空洞の形成を認めなかつた(図4,5参照)。感作ならびに非感作動物に二次抗原として流動パラフィンと脱水ラノリンのみを3:1の割合に混合したものの0.1mlを肺臓内に注射した場合はいずれも肺臓に著変をみとめなかつた。その成績は表1に示す如くである。

この実験成績から明らかなように,肺臓内注射に加熱

表1 菌体を用いた場合の空洞形成

モルモット 番 号	感 作	二 次 抗 原		二次抗原の 注射後剖見 までの日数	空 洞 の ※ 形 成
		肺 臓 内 注 射	量		
G C L 36~50	人型結核菌(H <sub>37</sub> R 株)加熱死菌と流動 パラフィン,脱水ラノリン混合液	人型結核菌(H <sub>37</sub> Rv株)生菌の 流動パラフィン,脱水ラノリン 浮遊液の0.1ml	0.1mg	30 日	4/9
				20 日	0/3
K G L 1~6	(-)			30 日	1/5
G C L 18~31	人型結核菌(H <sub>37</sub> Rv株)加熱死菌と流動 パラフィン,脱水ラノリン混合液	人型結核菌(H <sub>37</sub> Rv株)加熱死 菌の流動パラフィン,脱水ラノ リン浮遊液の0.1ml	1 mg	30 日	7/14
					K G L 8~17
K G L 23~28	人型結核菌(H <sub>37</sub> R <sub>1</sub> 株)加熱死菌と流動 パラフィン,脱水ラノリン混合液	流動パラフィン,脱水ラノリン 混合液の0.1ml	0.1mg	30 日	0/5
					K G L 29~34

※は分母に供試モルモット数を,分子に空洞を形成した匹数を示す

死菌を用いた場合には,予め感作を行つた場合と行わなかつた場合との差は極めて明らかで,感作を行うことが必須条件となり,空洞の形成には結核のアレルギー反応が重要な役割を演じていることが明らかとなつた。

次に空洞形成に関与する抗原性物質を明らかにしようと考へて次の実験を行つた。

## 2) 菌体成分を用いた場合の空洞形成

空洞形成に関与する抗原性物質が菌体のいずれの成分中に存在するかを明らかにしたいと考へ,まず上記の如く人型結核菌(H<sub>37</sub>Rv株)および鳥型結核菌(竹尾株)からリポ蛋白質を,人型結核菌(H<sub>37</sub>Rv株)培養濾液からツベルクリン蛋白質πSを調製し,そのおのおのについて抗原性の有無ならびに強弱を比較検討した。すなわち表2に示す如く予め人型結核菌で感作を行つてツベル

表2 菌体成分を用いた場合の空洞形成

モルモット 番 号	感 作	二 次 抗 原		二次抗原の 注射後剖見 までの日数	空 洞 の ※ 形 成
		肺 臓 内 注 射	量		
G C L 52~60	人型結核菌(H <sub>37</sub> Rv株)加熱死菌と流動 パラフィン,脱水ラノリン混合液	人型結核菌(H <sub>37</sub> Rv株)加熱培 養濾液より調製したツベルクリ ン蛋白質πSの流動パラフィン 浮遊液の0.1ml	※※※	30 日	4/8
			1 mg		0/5
K G L 18~22	(-)				
G C L 67~75	人型結核菌(H <sub>37</sub> Rv株)加熱死菌と流動 パラフィン,脱水ラノリン混合液	人型結核菌(H <sub>37</sub> Rv株)加熱死 菌より調製したリポ蛋白質の流 動パラフィン浮遊液の0.1ml	※※	15~20 日	6/8
			2 mg	30 日	1/5
K G L 41~46	(-)				
G C L 76~88	鳥型結核菌(竹尾株)加熱死菌と流動パ ラフィン,脱水ラノリン混合液	鳥型結核菌(竹尾株)加熱死菌 より調製したリポ蛋白質の流動 パラフィン浮遊液の0.1ml	※※	15~20 日	5/5
			2 mg	30 日	0/4
K G L 35~46	(-)				

※は分母に供試モルモット数を,分子に空洞を形成した匹数を示す ※※リポ蛋白質N量:人型結核菌(H<sub>37</sub>Rv株)……3.94% 鳥型結核菌(竹尾株)……6.3±0.05% ※※ツベルクリン蛋白質N量:人型結核菌(H<sub>37</sub>Rv株)培養液……11.71±0.05%

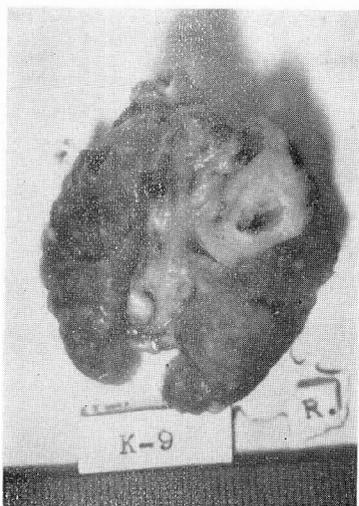


図 1  $H_{37}Rv$  株生菌 0.1mg 注射30日後の空洞



図 2  $H_{37}Rv$ 株加熱死菌 1mg 注射30日後の空洞

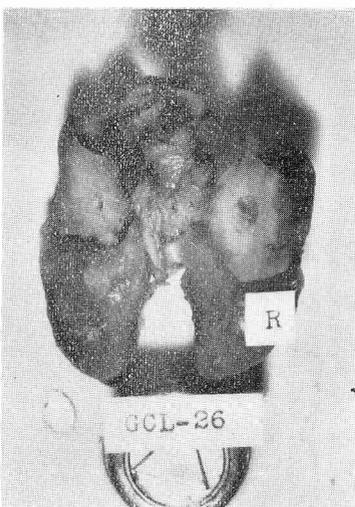


図 3  $H_{37}Rv$ 株加熱死菌 1mg 注射30日後の空洞

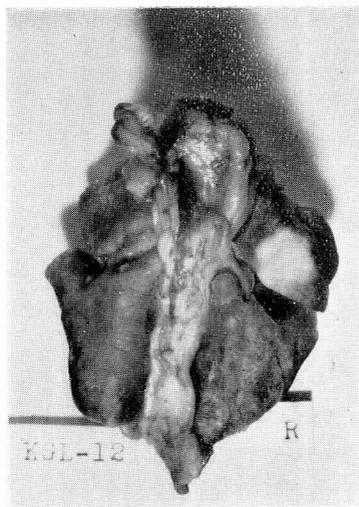


図 4  $H_{37}Rv$ 株加熱死菌 1mg 注射30日後の病巣 (非感作群)

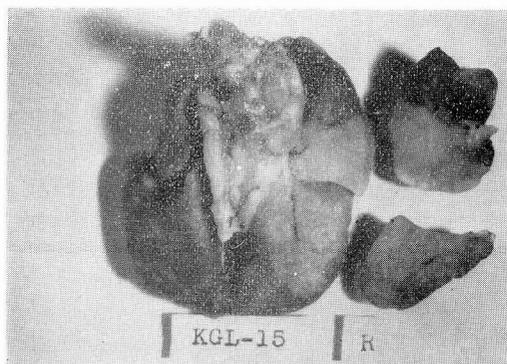


図 5  $H_{37}Rv$ 株加熱死菌 1mg 注射30日後の病巣 (非感作群)限局性肺炎巣が形成されている

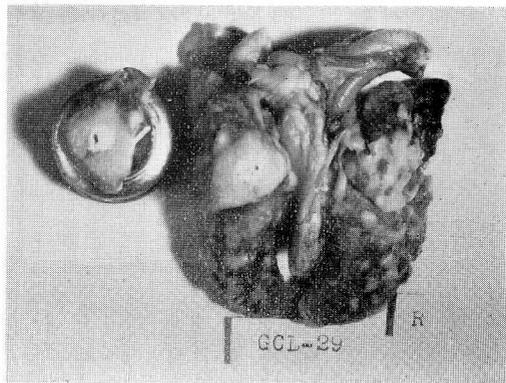


図 6  $H_{37}Rv$ 株加熱死菌 1mg 注射30日後の病巣 (感作群) 被包乾酪巣が形成されている

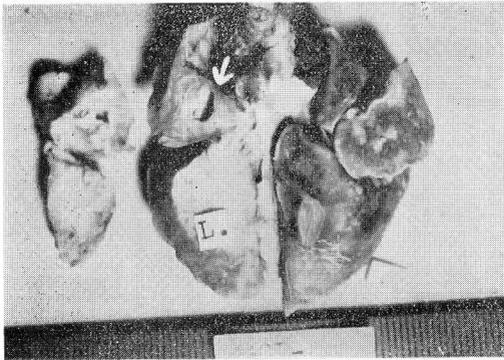


図7 H<sub>37</sub>Rv株培養濾液よりのツベルクリン蛋白質 1 mg 注射30日後の空洞

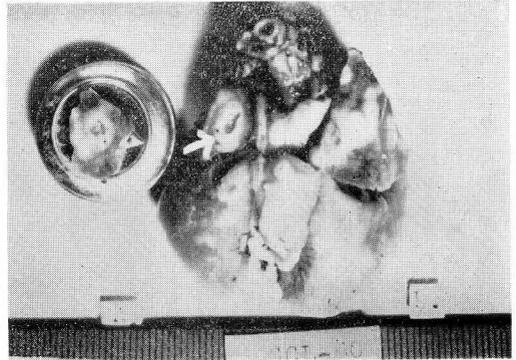


図8 H<sub>37</sub>Rv株培養濾液よりのツベルクリン蛋白質 1 mg 注射30日後の空洞

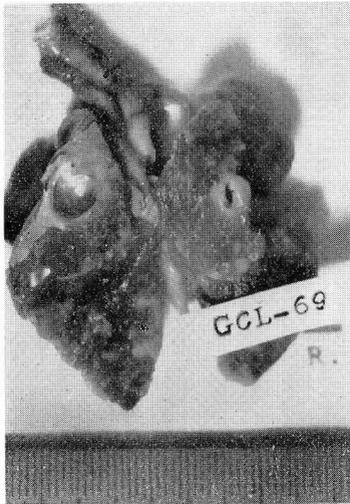


図9 H<sub>37</sub>Rv株死菌より調製したリボ蛋白質 2 mg 注射15日後の空洞

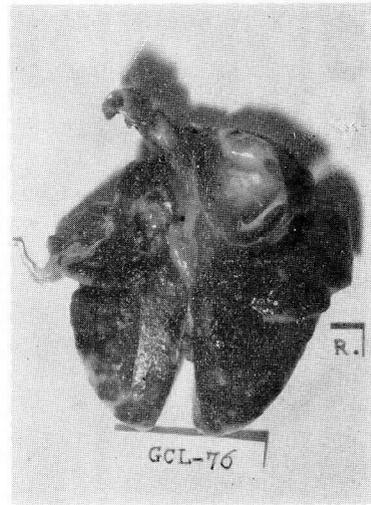


図10 鳥型菌竹尾株死菌より調製したリボ蛋白質 2 mg 注射15日後の空洞

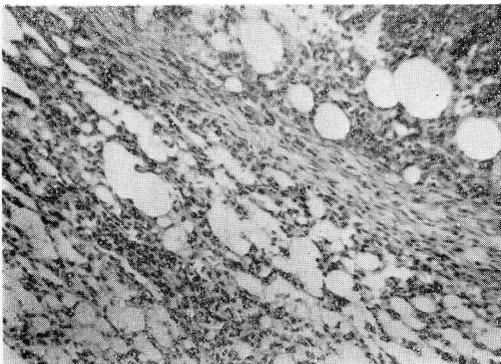


図11 GCL-69(図9)の空洞壁 線維性被膜の形成は弱く、すでに病巣の吸収像がみられる

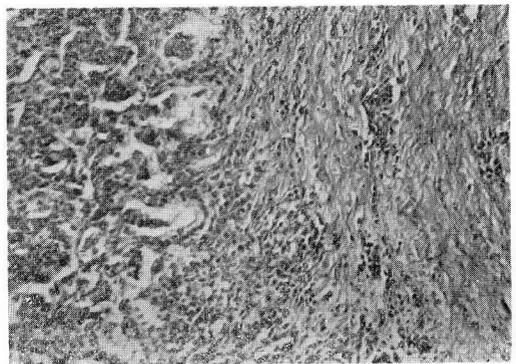


図12 K-9(図1)の空洞壁 非常に強い線維の増殖がみられる

クリン反応を陽転せしめたモルモットの肺臓内にツベルクリン蛋白質  $\pi$ S 劃分 1 mg を二次抗原として注射した場合には肺臓内注射後約 1 カ月目に 8 例中 4 例に空洞の形成を認め (図 7, 8 参照), 非感作群においては全例に空洞の形成を認めなかつた。また人型結核菌より調製したリポ蛋白質の 2 mg を二次抗原としてツベルクリン反応陽性のモルモットの肺臓内に注射した場合には, 感作群 (ツベルクリン反応陽転群) においては極めて早期に (15~20日) かつ高率 (8 例中 6 例) に空洞の形成を認めたが (図 9 参照), 非感作群 (ツベルクリン反応陰性の対照群) においても肺臓内注射後約 30 日目に 5 例中 1 例に空洞の形成を認めた。次に鳥型結核菌で感作を行った後に鳥型結核菌から調製したリポ蛋白質の 2 mg を用いた場合にも極めて早期 (15~20日) かつ高率 (5 例中 5 例) に空洞の形成を認めたが非感作群においては空洞の

形成は認められなかつた。

以上の成績からこの両者とも空洞形成に関与する抗原性物質と見做さねばならぬが, リポ蛋白質を用いた方がやや空洞形成率が高く, したがって抗原活性も強いかもしれないがこの点は更に両抗原の定量的比較実験等を行つて両抗原活性因子のいずれが重要な役割を演ずるかを確定したいと考える。なお本実験に使用したツベルクリン蛋白質ならびにリポ蛋白質の窒素量は表 2 に示す如くである。

B 病理組織学的所見

詳細な病理組織学的検索の結果については次報にゆずり, ここでは空洞形成機構に関係があると思われる 2, 3 の点について述べる。上記の実験方法によつて形成された空洞の所見を肺臓内注射に使用した抗原の種類によつて比較したのが表 3 である。表によつても明らかな如

表 3 肺臓内注射抗原の種類による空洞の比較

		生 菌	死 菌	リポ蛋白質	蛋白質
肉 眼 的 所 見	肋 膜 の ゆ 着	強 い	強 い	弱 い	弱 い
	病 巣 の 大 き さ	広 い	広 い		
	空 洞 壁 の 厚 さ	厚 い	厚 い	薄 い	薄 い
	他 肺 野 へ の 撒 布	しばしばあり	しばしばあり	殆んどない	殆んどない
顕 微 鏡 的 所 見	壁 内 壊 死 乾 酪 物 質 の 量	多 い	多 い	殆んどない(少量)	殆んどない(少量)
	上 皮 性 被 覆 の 有 無	殆んど認めぬ	殆んど認めぬ	多数例にあり	多数例にあり
	結 合 織 性 被 膜 形 成 の 程 度	強 い	強 い	弱 い	弱 い
	周 局 炎	強 い	強 い	弱 い	弱 い
	病 巣 吸 取 像	な い	な い	あ り	あ り
	巨 細 胞	認 め ぬ	認 め ぬ	認 め ら れ る	殆んど認めぬ

く, これらの空洞は病理組織学的特徴から次の 2 型, すなわち, 抗原として結核菌の生菌および死菌を用いた際に形成されたもの (菌体型) と, リポ蛋白質およびツベルクリン蛋白質を用いた場合に形成されたもの (菌体成分型) とに分つことができる。

生菌および死菌を使用した場合に形成された空洞, あるいは被包乾酪巣の特徴は, 空洞壁が厚いこと, とくにその結合織性被膜の形成が著明なことである (図 12 参照)。これに反して, 菌体成分型, すなわちリポ蛋白質あるいは蛋白質を用いた場合に形成せられたものでは空洞壁は薄く, 結合織性被膜の形成もはるかに弱い (図 11 参照)。

次にウサギの肺臓に形成された実験的空洞<sup>9, 10)</sup>と比較してみると, リポ蛋白質あるいは蛋白質等の菌体成分を使用して形成された空洞ではウサギとモルモットの間に著しい相違点がなく比較的よく類似した所見を示しているが, 生菌および死菌等の菌体を用いて形成された空洞

表 4 菌体を使用した場合の空洞のモルモットウサギにおける病理学的相違点

	モルモット	ウサギ
肋 膜 の ゆ 着	強 い	弱 い
空 洞 の 厚 さ	厚 い	厚 い
空 洞 内 壊 死 乾 酪 物 質 の 量	多 い	比較的少ない
上 皮 性 被 覆 の 有 無	認 め ぬ	少数例に見られる
結 合 織 性 被 膜 形 成 の 程 度	極めて強い (卅)	強 い (卅)
周 局 炎	増殖性傾向が強い	滲出性傾向が強い

ではモルモットとウサギの間にかなり著しい相異点がある。その主な相違点は表 4 の如くである。

この報告において述べた如くモルモットに実験的に結核性空洞を形成せしめる場合において、肺臓内に注射し結核菌の生菌を使用する場合にも、予め動物を結核菌で感作しておく方がはるかに空洞形成率が高い。また予め結核菌で感作を行つた動物に二次抗原として結核菌の加熱死菌およびツベルクリン蛋白質を肺臓内に注射しても空洞が形成せられ、しかも感作を行わない動物では空洞の形成が認められなかつた。この事實は空洞形成には第一に感作の成立していることが必須条件をなしていることを示唆するものであつて、山村ら<sup>9,10</sup>がウサギを使用し行つた実験成績と全く一致するものである。肺臓内に注射し生菌あるいは死菌を用いた場合の空洞の形成率をウサギの場合と比較すると、モルモットの場合ではやや低いようであるが、感作群では空洞の形成に到らなかつたもののほとんど全例にいわゆる被包乾酪巣が形成せられていた(図6参照)。すなわち病巣中に乾酪性変化が認められることはウサギの場合と異ならず、ただ乾酪物質脱落の機転の上でウサギの場合と異なるために空洞形成率が低いのではないかと考えられる。この点に関しては病理学的所見の項に記した如く、モルモットの空洞壁にはウサギの場合と比べて更に著明なセンイの増殖がみられる事実によつても、乾酪性物質の融解脱落機転がウサギの場合と異なることを示すものと考えられる。菌体成分特にリボ蛋白質を使用した場合の感作群においては極めて高率かつ早期に空洞の形成が見られたことはウサギの実験の場合と同様である。この事實はリボ蛋白質中に空洞形成に重要な役割を演ずる活性因子の存在することを示唆するものであるが、かかるリボ蛋白質が結核性アレルギーの成立において真に特殊な抗原活性因子であるか否かは更に今後の研究によつて確定したいと考える。なお感作を行わないでリボ蛋白質のみを肺臓内に注射しても少数例に空洞の形成が見られた。これはリボ蛋白質自身に動物を感作する能力があると考えられるのであるが、ツベルクリン反応で比較してみるとモルモットではこの物質によつて感作される力がウサギに比して弱いように考えられる。

## 第5章 結 論

モルモットを人型結核菌 ( $H_{37}Rv$ 株) 加熱死菌で感作した後、その肺臓内に人型結核菌 ( $H_{37}Rv$ 株) 生菌の流動パラフィン、脱水ラノリン浮遊液を注射することによつて結核性空洞を形成せしめることができる。この際感作を省略すると空洞形成率が著しく低下する。次に感作動物に人型結核菌 ( $H_{37}Rv$ 株) 加熱死菌、ツベルクリン蛋

白質 ( $H_{37}Rv$  株培養濾液より調製)、ならびにリボ蛋白質 (人型結核菌  $H_{37}Rv$  株および鳥型結核菌竹尾株より調製) を注射することによつても空洞を形成せしめることができる。これに反して感作を行わないで二次抗原のみを肺臓内に注射した場合にはいずれも空洞の形成は認められなかつた。ただし人型結核菌より調製したリボ蛋白質を用いた場合のみ5例中1例に空洞が形成されたが、これはリボ蛋白質自身に感作能力があるためと考えられる。菌体成分特にリボ蛋白質を使用すると感作群では極めて早期(15~20日)かつ高率(ほとんど100%)に空洞が形成せられる。このことは少なくともリボ蛋白質中に空洞形成に重要な役割を演ずる抗原活性因子が存在することを示唆するものである。形成された空洞はウサギ肺の空洞に比してその病理組織学的所見の上でかなりの差異を示す。

終りに御校閲を頂いた院長渡辺三郎博士に深謝し、また御指導と御鞭撻を頂いた山村雄一博士ならびに中村滋博士に深謝する。この研究は原生省治療研究費によつて行われた。記して謝意を表す。

(本論文の要旨は第31回日本結核病学会総会において発表した)

## 文 献

- 1) Nieberle, H.: Beitr. K.I. Tbk., 75: 179, 1930.
- 2) Raebiger, H. and Lerche, M.: Erg. allg. Path., 21, Abt. 2, 1926.
- 3) Baumgarten, P.: Verh. dtsh. path. Gesel., 4, Tagg., 1901.
- 4) Orth, J.: Berl. Klin. Wschr. Nr. 20, 1906.
- 5) 青山敬二: 結核, 2: 495, 1924.
- 6) 武田勝男・新保幸太郎: 結核, 20: 208, 275, 472, 1942.
- 7) Lurie, M.B.: Annals New York Acad. Scien., 52: 627, 1949.
- 8) Ratcliffe, H.L. and Wells, W.F.: J. Exp. Med., 87: 545, 585, 1948.
- 9) 山村雄一: a) 結核, 29: 143, 1954. b) 結核, 29: 361, 1954.
- 10) 山村雄一: 日本臨牀, 13: 1, 1955.
- 11) 戸田忠雄: 綜合研究結核研究班報告, 1953.
- 12) Floch, J. and Lees, M.: J. Biol. Chem., 191: 807, 1951.