

結核感作動物における，腹腔内単核細胞反応について

第2報 ハツカネズミおよびウサギの腹腔内単核細胞反応と
腹腔内に注入せられた結核死菌の単核細胞中の消長について

原 沢 道 美・衣 笠 恵 士

前 川 正・吉 田 清 一

国立予防衛生研究所結核部 (部長 柳沢 謙)

東京大学冲中内科教室 (教授 冲中重雄)

受付 昭和 32 年 1 月 16 日

まえがき

さきに著者らは，グリコーゲンおよび結核死菌に対するモルモットの腹腔内単核細胞反応を検索し，それらに対する結核感染モルモットの腹腔内単核細胞反応が，正常モルモットのそれに比しより速かに行われることを認め，すでに前報¹⁾に報告した。また腹腔内に注入せられた結核死菌の運命を単核細胞を通して観察し，結核感染モルモットでは正常モルモットに比し，単核細胞による死菌の処理がより速かなることを認め，これを同様に前報¹⁾に報告した。つぎに著者らは，モルモットとその結核感染過程を異にするハツカネズミおよびウサギについて，同様な実験を試み，これらの動物間にその単核細胞の遊出状況にいかなる差があるかを検索し，2,3 の知見を得たので，その結果をここに報告する。

実験成績

実験(1) グリコーゲン，結核死菌に対するハツカネズミの腹腔内単核細胞反応と，単核細胞中の結核菌の消長について

実験材料ならびに実験方法：

正常ハツカネズミ45匹，および人型結核菌H₂株の0.01 mg (12×10⁴生菌単位) を尾静脈に接種後4週目のハツカネズミ45匹の2群計90匹のdd系ハツカネズミを実験に使用した。体重は両群ともほぼ同じで，17~25gである。

これらのハツカネズミを3実験群に分け，実験(1)では，グリコーゲンを0.01mg/cc含有する生理的食塩水0.5ccを腹腔内に注入し，翌日より5日間，両群とも毎日3匹ずつを殺し，ペパリンを含むTyrode溶液10cc

表 1 結核感染ハツカネズミの剖検所見および定量培養成績

動物番号		1 ~ 3	4 ~ 6	7 ~ 9	10 ~ 12	13 ~ 15	16 ~ 18	19 ~ 21	22 ~ 24	25 ~ 27	28 ~ 30	31 ~ 33	34 ~ 36	37 ~ 39	40 ~ 42	43 ~ 45
リ ン バ 腺	しつぺき	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	そけい	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	こうふく	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-
	門気 脈管	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
内 臓	肺	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	肝	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	脾	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	脾重(g)	0.16	0.29	0.27	0.26	0.32	0.27	0.25	0.24	0.30	0.24	0.25	0.29	0.27	0.25	0.28
脾 10 mg 中生菌数		3036	1870	1520	1210	1060	480	910	2053	895	606	950	2050	2196	1110	470

注 各例とも3例の平均を示す

{ リンパ腺腫脹 + アズキ大 卍 サイズ大 卍 ソラマメ大
 { 内臓病変 + さがして見 卍 一見して 卍 それ以上
 { つかる程度 数 個

で腹腔内滲出細胞を洗出した。実験(2)では、青山B株の乾燥死菌体を1mg/ccの割合にふくむ菌液を生理的食塩水でつくり、その0.5ccを腹腔内に接種し翌日より5日間、両群とも毎日2~3匹ずつ殺し、同様な方法で細胞を洗出した。実験(3)では、同じ青山B株の乾燥死菌体を1mg/ccの割合にふくむ菌液を、0.01mg/ccの割合にグリコーゲンを含有する生理的食塩水でつくり、その0.5ccを腹腔内に接種し、翌日より5日間、両群とも毎日3匹ずつ殺し、細胞を洗出した。

細胞の検索方法は前報¹⁾記載のごとくである。

次に、実験(2)で得た一部の塗抹標本に、ロダミンオーラミン染色²⁾をし、前報¹⁾記載の如き方法にて、腹

腔内に接種した死菌の消長を、単核細胞を中心にして観察した。

なお、結核感染ハツカネズミの剖検所見および脾の定量培養の成績は表1のごとくである。

実験成績：

さきに報告したモルモットにおける実験¹⁾では、グリコーゲンを0.01mg/cc、結核死菌を1mg/ccの割合に含有する生理的食塩水10ccを腹腔内に注入したが、ハツカネズミでは体重がモルモットの約 $\frac{1}{20}$ であるために、その0.5ccを腹腔内に注入した。

各実験における、両群の細胞数および細胞種類の経過をみると、表2のごとくである。細胞数はいずれの実験

表2 ハツカネズミにおける腹腔内単核細胞反応

実験別	群別 細胞 月	正常ハツカネズミ群				結核感作ハツカネズミ群			
		細胞数	好中球	好酸球	単核細胞	細胞数	好中球	好酸球	単核細胞
		1mm ³ 中	%	%	%	1mm ³ 中	%	%	%
グリコーゲン	1	1800	3.0	0.3	96.7	2000	2.5	0.2	97.3
	2	1300	1.2	0	98.8	1800	0.3	0.2	99.5
	3	1200	0.3	0.2	99.5	1300	0.5	0	99.5
	4	1700	0.2	0	99.8	1600	0.5	0	99.5
	5	2100	0.5	0	99.5	1400	0.5	0.8	98.7
結核死菌	1	1800	6.0	0	94.0	1600	4.0	0.2	96.0
	2	1300	3.0	0.2	96.5	1600	3.2	0	96.8
	3	1200	4.0	0.8	95.2	1200	1.2	0	98.8
	4	1900	0.5	0	99.5	1300	1.6	0	98.4
	5	1900	0.8	0.2	99.0	1300	0.6	0.2	99.2
結核死菌+グリコーゲン	1	1500	3.0	0.6	96.4	2300	4.0	0	96.0
	2	1000	3.0	0.5	96.5	1600	1.8	0.3	97.9
	3	1500	0.8	2.5	96.7	1800	0.7	0.7	98.6
	4	2000	1.0	0	99.0	1600	1.0	0.2	98.8
	5	2100	1.5	0.2	98.3	1600	1.2	0.8	98.0

においても、両群ともほぼ同じような経過を示し、両群の間に大差は認められない。これをさきに報告したモルモットの成績と比較するに、1mm³中の細胞数では両者に大差がない。しかし、モルモットでは30ccのTyrode溶液で、また、ハツカネズミでは10ccのそれで、それぞれ細胞を洗出したので、洗出せられた細胞の実数はモルモットの方が多く、ハツカネズミの約2~3倍である。

つぎに、細胞種類の変動をみると、いずれの実験においても、正常ハツカネズミ群、結核感染ハツカネズミ群ともに、すでに24時間後には単核細胞が洗出細胞の大部分を占めており、以後5日間の単核細胞反応に差は認められなかった。すなわち、ハツカネズミにおいては、さきのモルモットにおける実験¹⁾にみられたような両群の差すなわち、結核感染モルモットではすでに24時間後に単核細胞反応が大部分を占めているのに対し、正常モル

モットでは単核細胞が洗出細胞中の大部分を占めるようになるのはようやく3日目からであるというような差が認められなかった。これらの関係は図1をみれば明らかである。

次に、実験(2)の塗抹標本を用いて、腹腔内に接種した菌の消長を、単核細胞を中心にして観察してみた。その成績は図2に示すごとくである。正常ハツカネズミ群では、食菌単核細胞数は1日目が4.3%であるが、2日目、3日目はやや増加し、それぞれ8.8%、7.0%の値をしめす。以後は少しく減少するが、5日目にも5.2%に認められた。しかるに結核感染ハツカネズミ群では、1日目に5.5%に認められたが、以後は減少するのみで、4日目、5日目にはほとんど食菌単核細胞も、また菌も認められなかった。以上は、モルモットにおける同じ実験¹⁾ほど、両群の差は著明ではないが、ほぼ同様な

図1 ハツカネズミにおける腹腔内単核細胞の推移

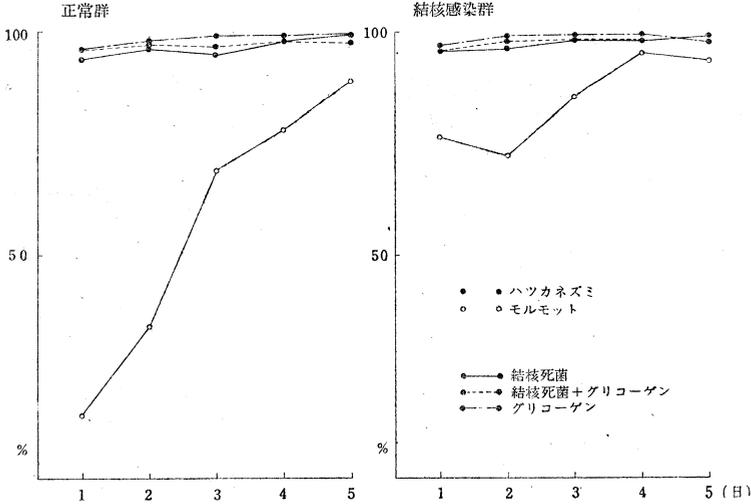
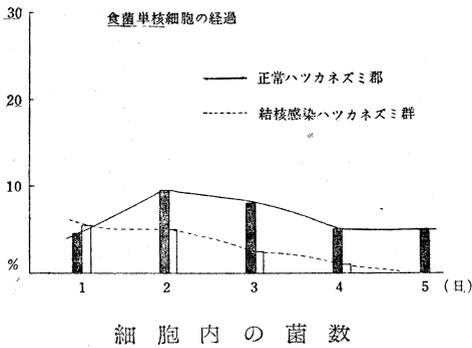


図2 ハツカネズミにおける食菌単核細胞と細胞内の菌数



群別	細胞内の菌数				
	1	2	3	4	5
正常ハツカネズミ	+	++	++	++	++
結核感染ハツカネズミ	+	+~++	+	+	+~0

傾向を示し、結核感染ハツカネズミでは正常ハツカネズミに比し、単核細胞内の結核死菌の処理が、より速かであることが認められた。

実験(II) 結核死菌に対するウサギの腹腔内単核細胞反応と、単核細胞中の結核菌の消長について

実験材料ならびに実験方法:

正常ウサギ9匹、強毒牛型結核菌 Ravenel株の0.001mg (13×10² 生菌単位)を耳静脈に接種後4週目のウサギ10匹、および同株の0.01 mg (13×10⁵ 生菌単位)を耳静脈に接種後4週目のウサギ9匹、計3群28匹のウサギを実験に使用した。体重は3群ともほぼ同じく2.4~3.4kgである。

これらのウサギに、0.01mg/ccの割にグリコーゲンを含有する生理的食塩水で作った青山B株の乾燥死菌体の

1mg/ccの菌液、40ccを腹腔内に注入し、翌日より5日間これらの3群より毎日2匹ずつ殺し、ペパリンを含むTyrode溶液30ccで細胞を洗出した。

細胞の検索方法は前報¹⁾記載のごとくである。

次に、一部の塗抹標本に、ロダミン・オーラミン染色²⁾をし、前報¹⁾記載の如き方法にて、腹腔内に接種した死菌の消長を、単核細胞を中心にして観察した。

なお、結核感染ウサギは、実験終了後の剖検所見および脾の定量培養の成績より明らかに結核の感染像が認められた(表3)。

実験成績:

さきに報告したモルモットにおける実験¹⁾では結核死菌を1mg/ccの割に含有する菌液10ccを腹腔内に注入したが、ウサギでは体重がモルモットの約4~5倍以上であるために、その40ccを腹腔内に注入した。その細胞数および種類の変動を示すと、表4の如くである。

細胞数は3群ともほぼ同じような経過を示し、3群の間に大差は認められない。また細胞種類の経過にも、3群の間に大差は認められず、いずれも接種24時間後では偽好酸球が多いが、2日目になると急激に単核細胞が増加し、3日目以後は単核細胞がその大部分を占めていた。すなわち、ウサギにおいては、上述したハツカネズミにおけるそれと同じように、さきのモルモットにおける実験¹⁾にみられるような両群の差、すなわち、結核死菌に対し、結核感染モルモットではすでに24時間後に単核細胞反応が大部分を占めているのに対し、正常モルモットでは単核細胞が洗出細胞中の大部分を占めるようになるのは漸く3日目からであるというような差は認められなかった。しかし単核細胞の動員様式は、ハツカネズミにおけるそれと異なっている(図3)。

しかしながら、図4にみる如く、単核細胞を中心として観察した死菌の消長は、モルモット¹⁾およびハツカネ

表3 結核感染家兎の剖検所見および定量培養成績

群	別	R株 0.001mg 静注群										R株 0.01mg 静注群										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19		
ツベルクリン反応		0	0	0	0	18	0	0	0	20	0	16	14	14	0	15	16	17	0	14		
解剖所見	リンパ腺	しつべき	左右	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	
			左右	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
		そけい	左右	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			左右	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		こうふく	左右	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	左右		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
	門脈	管	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	
		管	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	
	内臓	肺	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		肝	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	
脾		-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+		
脾重(g)		1.4	1.6	2.5	2.6	3.2	1.2	1.6	1.9	2.0	3.4	6.3	2.4	2.5	3.0	4.5	2.8	1.9	1.9	1.7		
脾 10mg 中生菌数		18	85	590	750	330	1450	123	21	300	30	680	180	500<	4	500<	11	500<	500<	500<		

注 リンパ腺腫脹: +アズキ大 卍ダイズ大 卍ソラマメ大
 内臓病変: +さがして見つかる程度 卍一見して数個 卍それ以上

表4 ウサギにおける腹腔内単核細胞反応

図3 家兎における腹腔内単核細胞の推移

I. 正常ウサギ群

細胞目	細胞数 1mm ³ 中	偽好酸球 %	好酸球 %	単核細胞 %
2	5400	24.3	1.0	74.7
3	3650	22.0	0	78.0
4	2500	6.7	0	93.3
5	1200	1.5	0	98.5

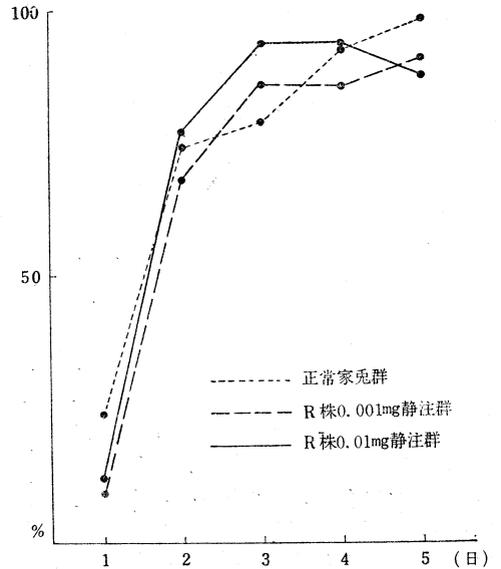
II. Ravenel 株 0.001mg 静注群

1	2000	90.5	0	9.5
2	2650	31.5	0.5	69.2
3	4400	14.5	0	85.5
4	3750	14.0	0	86.5
5	2050	8.3	0.2	91.5

III. R 株 0.01mg 静注群

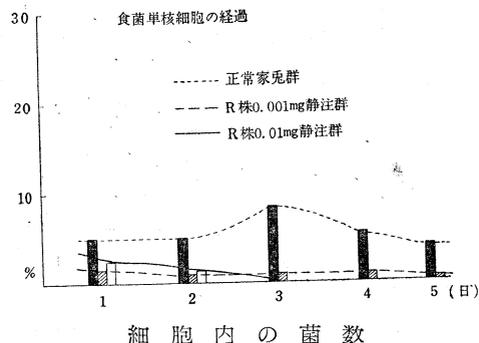
1	3800	89.3	0.2	10.5
2	2300	24.0	0	76.0
3	2600	4.0	0	96.0
4	2100	6.0	0	94.0
5	3200	12.5	0	87.5

ズミにおけるそれと同様に、正常ウサギおよび結核感染ウサギの間には、明らかな差が認められた。すなわち、正常ウサギでは、食菌単核細胞数は1日目から6.0%であるが、3日目にはやや増加し8.5%の値を示す。その後



はや減少するが、5日目にも4.0%に認められた。しかるに結核感染ウサギ群では、1日目それぞれ2.5%1.0%に認められたが、以後は漸次減少するのみで、4日目、5日目にはほとんど食菌単核細胞も、また菌も認められなかった。以上は、モルモットにおける同じ実験¹⁾ほど、同群の差は著明ではないが、ほぼ同様の傾向を示し、結核感染ウサギでは正常ウサギに比し、単核細胞内の結核死菌の処理が、より速かであることが認められた。

図4 ウサギにおける食菌単核細胞の消長と細胞内菌数



群別	細胞内の菌数				
	1	2	3	4	5
正常家兎群	+~++	++	++	++	+
R株0.001mg静注群	+	+	+	+	+
R株0.01mg静注群	+	+	0	0	0

総括ならびに考案

モルモットと結核感染過程を異にする、ハツカネズミおよびウサギについて、結核死菌に対する腹腔内単核細胞反応と、腹腔内に注入せられた結核死菌の単核細胞中の消長を、それぞれ検索した。その結果、上述の如く、モルモット、ハツカネズミおよびウサギとでは、その単核細胞動員様式がそれぞれ異なるにもかかわらず、単核細胞を通してみた死菌の処理態度には同じような傾向が認められた。この所見は、すでに前報¹⁾で考察した如く、単核細胞内の結核死菌の処理機能には、単核細胞動員の如何よりは、むしろ、Suter²⁾らの主張する如き、感染動物と正常動物の単核細胞とでは、その生物学的性状が異なることが大きな役を演じていることを示しているものと思われる。

上述の如き実験方法にて観察した結核死菌に対する単核細胞の処理現象は、抗結核免疫が結核菌の増殖抑制を指標としなければならない観点からみると、それを直ちに結核動物の免疫現象と見なすことはできないと思われる。そこで著者らは、この現象の意味づけをさらに明らかにするため、正常およびBCG免疫モルモットの腹腔内に、人型結核菌 H₂₆ 株の 0.1mg を接種し、接種直後より8週間、腹腔内滲出細胞、肺、肝、脾、および後腹膜・門脈リンパ腺中の生菌数の消長を経過を追って観察した。

その結果、結核免疫モルモットでは正常モルモットに比し、腹腔内滲出細胞中の生菌数の消長は明らかに少ないことを認め、死菌における成績を、さらに定量的に裏付ける成績⁴⁾が得られた。それ故、本実験で観察した、結核死菌に対する単核細胞の処理現象は、ほぼ結核の免疫現象と見なすのではないかとと思われる。

なおこの場合、体液性要因^{5,6)}も本現象に何等かの役割を演じていると思われるが、それについてはなお明らかではない。目下引き続き、本現象を試験管内に移して観察を続けている。

さて、これらの動物により、結核死菌またはグリコーゲンに対する単核細胞の動員様式がそれぞれ異なることの意味づけについては、明らかではない。Lurie⁷⁾は、結核菌に対して自然抵抗性を異にする二系統のウサギを用いて定量的吸入感染を行い、抵抗性の系統に属するウサギでは人型結核菌は急速に消滅されるのに対して、感受性の系統に属するウサギでは長期間菌の生存および増殖を許し、しかもツベルクリン・アレルギーの発現時期は前者の方が早い。これらのウサギに再感染を行つてみると、前者では再感染に対する抵抗力が初感染のそれに比して増強して現われるのに比し、後者では、抵抗力増強の程度は甚だ低いこと等を報告している。また Bloom⁸⁾らは、ダイコクネズミおよびウサギの腹腔内に油を注入し、48時間後の腹腔内単核細胞反応を検索し、両者の反応が異なることを認め、それより自然抵抗性の問題を考察している。

それ故、生体防禦機構の上にしめる単核細胞の役割を考え合わせると、上述のモルモット、ハツカネズミおよびウサギの間にみられた単核細胞動員様式の差は、これら3群の間にみられる結核に対する感染過程の差異に、何らかの役割を演じているものと思われる。しかし一方、先天的に抵抗性のある動物の単核細胞は、免疫動物のそれとともに菌の増殖を阻止する作用のあることも報告^{9) 10)}せられており、単核細胞の動員様式の差の解明については、免疫動物の夫の生物学的作用の差とともに、なお実験を加える必要があると思われる。

結 語

モルモットと結核感染過程を異にする、ハツカネズミおよびウサギについて、グリコーゲン、結核死菌に対する腹腔内単核細胞反応と、腹腔内に注入せられた結核死菌の単核細胞中の消長を、それぞれ観察した。

1) 正常および結核感染ハツカネズミとも、すでに24時間後には単核細胞反応が主役をしめており、その後の経過も両群の間に差が認められず、モルモットにおけるそれとは異なる所見が得られた。しかし、単核細胞内の菌の消長は両群で異なり、結核感染ハツカネズミでは正常ハツカネズミに比し、より死菌の処理が速く、モルモットにおけるそれと同様の傾向が認められた。

2) 正常および結核感染ウサギとも、24時間後には偽好酸球が主役を占めているが、2日目になると急激に単核細胞が増加し、3日目以後は単核細胞が大部分をしめていることを認めた。この両群の間にその単核細胞反応に差が認められないという点では、モルモットのそれと

異なり、ハツカネズミのそれと類似しているが、その単核細胞反応様式はハツカネズミにおけるそれとも異なっていた。しかし、単核細胞内の菌の消長は両群で異なり、結核感染ウサギでは正常ウサギに比し、より死菌の処理が速く、モルモット、ハツカネズミにおけるそれと同様の傾向が認められた。

3) 以上より、単核細胞内の結核死菌の処理機能には、単核細胞動員の如何よりも、それが免疫状態にあるか、否かが、大きな役割を演じているものと思われる。

(柳沢部長、冲中教授の御指導御校閲に深謝する)

文 献

- 1) 原沢道美 他：結核感動物に於ける腹腔内単核細胞反応について、第1報、結核、32：306～310, 昭32.
- 2) Yasaki, Y. et al. : Jikei Med. J., 2: 73～84, 1955.
- 3) Suter, E. : J. Exper. Med., 97: 235～245, 1953.
- 4) 原沢道美 他：医学と生物学, 41 : 167～172, 昭31.
- 5) Lurie, M. B. : J. Exper. Med., 69: 555～578, 1938.
- 6) 辻 周介 他：結核研究の進歩, 8: 215～224, 昭29.
- 7) Lurie, M. B. : Am. J. Med., 9: 591～610, 1950.
- 8) Bloom, W. L. et al. : Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 75: 171～172, 1950.
- 9) Rich, A. R. : The pathogenesis of tuberculosis, Charles C. Thomas. 1951.
- 10) Brieger, E. M. : Advances in tuberculosis research. 4: 236～304, 1951.