

実験的結核性空洞ならびに被包乾酪巢の成立機転に関する病理学的研究

第 2 編 結核菌注射局所肺組織における組織反応の推移

高 啓一郎・中村 滋・小川彌栄・平山 稔・福井 亨・竹内弘之・大島一馬

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

受 付 昭 和 33 年 4 月 7 日

結 言

モルモットの実験結核症において、その肺臓に空洞の発生しがたいことは周知のことであるが、山村ら¹⁾²⁾により考案された実験的空洞作成の方法を用いるとモルモットにも比較的容易に空洞を作成することができる。しかしながら、この場合にもウサギにくらべると空洞形成率はかなり低く、依然として空洞の発生が困難なことを示している。

著者ら⁴⁾はモルモットの肺臓に形成せられた空洞、被包乾酪巢および結核腫などの各種の病巣について病理組織学的検索を行い、空洞および被包乾酪巢が厚壁型と薄壁型の 2 型に大別しうること、また被包乾酪巢が厚壁型に属して空洞形成率と病理組織学的性状との間に一連の関係が存在することを明らかにした。前報ではこれらの病巣の形成率とその病理組織学的性質との関係について報告したのであるが、今回は結核菌注射後の組織反応の推移を検索し、モルモットの肺臓に空洞の発生しがたい原因を知りえたので報告する。

実 験 方 法

動物は体重 500g 前後の成熟モルモットをえらび、こ

れを感作群および非感作群の 2 群に分ける。動物の感作には次に述べる抗原混合液 0.5 ml を 5 日間隔で 2 回、大腿部皮下に注射する。

- 人型結核菌 H₃₇Rv 株, 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

抗原混合液の注射終了後約 3 週でツベルクリン反応が陽性となるが、この感作モルモットおよび非感作の正常モルモットに流動パラフィン 0.1 ml に浮遊せしめた人型結核菌 H₃₇Rv 株の生菌 0.1 mg, あるいはその死菌 1.0 mg を、胸壁を通じて直接肺臓内に注射する。

注射後 (以下注射とあるのはすべて肺臓内注射のことである) 24 時間以降 240 日の間に動物を屠殺剖検し、その肺臓を 10% 中性フォルマリン水、冷アセトン、塩基性醋酸鉛水溶液で固定、4μ のパラフィン切片とし、これらの切片についてヘマトキシリン—エオジン染色、Bielschowsky 氏鍍銀染色、Mallory 氏染色、メチル緑—ピロニン染色、Feulgen 氏反応、Lillie 氏の PAS 染色、トルイデン青染色などを行つて組織反応の経過を観察した。

表 1 肺の注射局所に形成せられた病巣の種類

形成せられた病巣の種類		注射後の日数														
		1	2	3	4	5	7	10	14	20	25	30	60	90	180	240
感作群	結核腫	2/2	3/3	2/2	2/2	3/3	2/2	3/3	3/3	3/4	1/3	4/34				
	被包乾酪巢									1/4	2/3	22/34	9/12	3/3	4/6	2/2
	空 洞											8/34	3/12		2/6	
非感作群	結核腫	2/2	2/2	2/2	2/2	3/3	2/2	3/3	3/3	6/6	3/3	22/25	8/11			
	被包乾酪巢											2/25	3/11			
	空 洞											1/25				

分母は剖検モルモット数を、分子は各病巣の認められていたモルモットの数を示す。なお病巣の分類は第 1 編で述べたものと同様である

成 績

各実験群モルモットに形成された病巣の肉眼的所見は表1に示すとくである。以下各群モルモットの注射局所における病変の経過について述べるが、病巣の分類は前報⁴⁾で用いたものに從つた。

1. 感作群

24 時間後

注射局所には小豆大ないし大豆大、割面が灰白色あるいは暗褐色円形の病巣が形成されており、その中心には粟粒大の暗紅色の出血点を認めることがある。

組織学的には高度の充血を伴つた剝離性肺炎である。すなわち病変部とその周辺の肺組織には強い充血があり、病巣中の肺胞壁には円形細胞が増加して肥厚し、肺胞中には滲出液とともに多数の大滲出細胞が認められる。しかしながら多核白血球および小円形細胞は少ない。

48 時間後

病巣は直径 10 mm 以上に増大し、灰白色ないし乳白色を呈して境界は鮮明である。

注射後 48 時間目の組織学的な特長は、既存の滲出性炎の周囲に増殖性反応の出現していることである。病巣中心部では 24 時間後に認められた充血の消退が著しく、大滲出細胞は非常に増加している。

一方、この滲出性炎の周囲には肺胞壁の肥厚とともに類上皮細胞ならびに線維芽細胞が出現し、すでに軽度の好銀線維の新生も認められる。しかしながら、まだ膠原線維の形成は認められず被膜としての形態はそなえていない。なお病巣中には閉塞性動脈内膜炎などの血管の変化および著しい気管支炎が認められた。

4 日後

肉眼的所見は2日後のものと同様である。しかし病変部肋膜が線維素性に癒着しているものを1例認めた。

組織学的には変性壊死の発生が認められる。すなわち、病巣中心部にみられる無数の大滲出細胞には、空胞変性を呈するもののほかに核の染色性を消失ないし減弱しているものが多数認められる。これらの変性大滲出細胞の核はヘマトキシリン、メチル緑などの色素に対する染色性を失っており、細胞質はエオジンには淡染してなお染色性を有しているがピロニンには不染色となつていく。

一方、増殖性炎の部分においては類上皮細胞および線維芽細胞の増加が著しく、好銀線維の強い新生増殖とともに Mallory 氏染色により青染する膠原線維の形成が認められる。この増殖性炎と中心部の滲出性炎との境界には強い多核白血球浸潤があり、ところによりかなり明確に両反応帯を分割している。またこのころより、血管に種々の変化が現われてくる。すなわち、増殖性炎の部分には結節性動脈周囲炎あるいは閉塞性動脈内膜炎の像

を呈するものがあり、また血管を圍繞してかなり著明な形質細胞浸潤も認められる。このほかに特長のある変化としては、注射後 3~4 日ごろより増殖性病巣に組織肥腫細胞の増加がみられることである。

7~14 日後

直径 10~15 mm、灰白色~乳白色の病巣で、肉眼的分類に従えばなお結核腫に属するものである。この時期にはすでにかなり強い肋膜の癒着が認められる。

注射後 7~14 日に認められる組織学的所見は 4 日ごろの病変の増強されたものである。すなわち、病巣中心の滲出性炎部への多核白血球浸潤が顕著となり、その部の変性壊死はかなり著しくなつている。また滲出性炎と増殖性炎の境界にみられた多核白血球浸潤部も壊死に陥つていくことが多い。

一方、増殖性炎の部位では類上皮細胞および線維芽細胞の増加とともに著明な膠原線維形成が認められる。このような増殖性炎のところには扁平化して内腔が変形あるいは閉塞している気管支を認めることがある。このような増殖性炎部は、ほとんど空洞壁ないしは被包乾酪巢被膜としての構造を完備しており、とくに 14 日後では 30~60 日後の病巣に認められるものとはほぼ同様の被膜を形成している。また膠原線維よりなる結合織性被膜の外側には、かなり広い範囲に類上皮細胞および小円形細胞よりなる肉芽組織がつづいている。

20~30 日後

この時期には病巣は直径 15~20 mm の大きさになつている。肺臓の固定完了後病巣を切開すると空洞あるいは被包乾酪巢が形成されており、被包乾酪巢の場合には病巣中心部に黄白色あるいは乳白色の乾酪物質が認められる。しかし被包乾酪巢を固定前に切開した場合にはその壊死物質はチーズ様硬を呈せずクリーム状、粥状ないし乳状の流動性を有している。

これは 20~30 日ごろに病巣に軟化融解が起り、固定によつてその軟化壊死物質が脱水硬化され乾酪様となることを明らかにしている。さて、これらの空洞あるいは被包乾酪巢の壊死物質はエオジンに淡染し、その中にヘマトキシリンで濃染あるいは淡染する多核白血球その他の細胞の核の碎片が多数みられる。ピロニン-メチル緑染色ではピロニンに不染色で、核および核碎片のみがメチル緑に淡染している。

この壊死物質につづいて類上皮細胞、小円形細胞、線維芽細胞および少数の多核白血球よりなる肉芽層（類上皮細胞層）がある。この層は人間あるいはウサギの空洞にくらべて薄く、類上皮細胞も少ない。小円形細胞の大部分を占めるのはリンパ球であり、形質細胞は比較的少ない。

肉芽層の外側には著明な結合織性被膜が認められ、被膜を構成する膠原線維はウサギにくらべて太く、かつ緻

密である。

結合織性被膜の外側は類上皮細胞および小円形細胞よりなり、好銀線維増殖の著しい増殖性炎が広範囲に存在している。

60~240 日後

60, 90, 180, 240 日後の剖検例では病巣内の軟化壊死物質は次第に硬度を増し、180 日以降では固定前に切開してもほとんど流動性がなく、いわゆる乾酪物質となっている。組織学的には 30 日後に形成せられた病巣とほとんど同様で、結合織性被膜の緻密化、および 180 日以降の被膜にみられる膠原線維の硝子化を除いては特記すべき変化は認められない。

2. 非感作群

注射後 24 時間の組織学的所見は感作動物とほぼ同様である。しかし 48 時間後以降の変化は非常に異なっている。すなわち、48 時間後以降の感作動物に認められた 2 相性の反応（病巣中心部の滲出性炎と周囲の増殖性炎）はみられないで、4 日後より注射局所全般には大単核細胞の増加と肺胞壁の肥厚が次第に強くなり、10 日後には類上皮細胞および小円形細胞よりなる強い増殖性の病巣を形成する。この病巣中にはかなり強い多核白血球浸潤をみることがあり、20~30 日後には顕微鏡的な小壊死巣の形成が認められる。しかし肉眼的に認められるような小豆大あるいは大豆大の乾酪巣の形成はきわめてまれである。これらの小壊死巣の周囲にもかなり著明な膠原線維の形成が認められる。

注射後 30~90 日の間には、このような小壊死巣の増加、融合を認める。しかしながら、多くの場合には小壊死巣周辺に形成された膠原線維により限局されて大きな壊死巣の形成には進まない。

総括ならびに考案

あらかじめ結核死菌で感作し、ツベルクリン反応を陽転せしめたモルモットの肺臓内に結核菌の生菌、死菌、リポ蛋白質あるいはツベルクリン蛋白質を注射すると空洞あるいは被包乾酪巣が形成せられ、使用した抗原の種類により病巣の形成率が異なることはすでに第 1 編⁴⁾で報告したところである。またそれらの病巣が病理組織学的に 2 つの型、すなわち、著明な結合織性被膜と広範囲に及ぶ強い増殖性炎を有する厚壁型と、結合織性被膜の形成がきわめて弱く、増殖性反応もあまり認められない薄壁型とに分類しうること、さらに生菌および死菌などの固形菌体を抗原として使用した場合に形成された病巣がほとんど厚壁型に属し、リポ蛋白質あるいはツベルクリン蛋白質により形成された病巣がすべて薄壁型に属することも記述した。

さて著者らは病巣の形成率とその病理学的性状との関係より、厚壁型にみられる強い増殖性の反応が被包乾酪

巣発生に関与する大きな因子であるとの結論を得たのであるが、その根拠は前報において述べたごとく、注射後 20~30 日に剖検せられた動物において、固定前の被包乾酪巣内壊死物質がすべて軟化融解して液状を呈していた点にある。すなわち、軟化融解した液状壊死物質が病巣内に残存するのはその排出が妨げられているためにほかならず、しかもこの場合の病巣は肺臓実質内に形成せられているゆえに灌注気管支の閉塞にその原因を求めるのが妥当である。一方、大部分の被包乾酪巣が厚壁型に属することから厚壁型に認められる病理組織学的特長のうちに灌注気管支を閉塞せしめる原因を求め、その結果前述の結論に到達したのである。

さて今回の実験を要約すれば以下のごとくである。感作モルモットの肺臓内に結核菌を注射した場合には注射後 2 日より滲出性炎の周囲に増殖性反応が現われ、4 日後には膠原線維も認められる。7 日後には線織性被膜が形成されてすでに空洞壁あるいは被包乾酪巣被膜としての組織学的特長を有するようになる。さらに注射後 14 日には 30~60 日後の病巣にみられるのとほとんど異なる程度の強固な被膜が形成されている。他方、病巣中心部の滲出性炎の部分は注射後 4 日ごろより変性壊死に陥り、次第に壊死が進行して 20~30 日ごろに軟化融解する。

以上の成績は病巣内壊死物質の軟化融解に先立つて被膜の形成せられることを示し、実験的包乾酪巣の発生機転に関するわれわれの推論を決定づけるに十分な根拠を提供するものである。上述のごとき経過は、結核菌の生菌を用いた場合でも死菌を用いた場合でもあまり異ならず、とくに肺臓内注射後 30 日まではほとんど差異が認められない。注射後 30 日以降では生菌群は死菌群にくらべて滲出性傾向および撒布巣形成が著しく、一方、死菌群では 90 日以降の病巣において類上皮細胞の解離型が認められた。

60 日以降では生菌群モルモットの衰弱が著しく、実験動物の大半が 90 日までに死亡するために以後の病変を比較することは不可能であった。

中村ら²⁾⁵⁾はウサギの肺臓における空洞形成の過程を追究しているが、両動物の組織反応を比較すると以下に述べるごとく相違点が見出される。

滲出性炎より壊死~軟化融解に至る過程においては質的ならびに量的に若干の差異が認められるが本質的な相違点は見出されない。

とくに壊死巣の軟化融解がともに 20~30 日後に起こることは、壊死乾酪化および軟化融解がほぼ同時期に起こることを示すものである。一方、被膜の形成においてはウサギにくらべモルモットでは早くから線維芽細胞の出現が著しく、膠原線維が早期に形成されて非常に線維化の傾向が強くなり、30~60 日後の病巣においても線織性被膜形

成の程度にかなり著しい差異が認められる。

両動物に形成せられた病巣の病理学的な相違については第1編で述べたが、空洞形成率がモルモットとウサギで異なる理由もまた上述のごとき被膜形成の強弱遅速により論じえられるであろう。

次に非感作モルモットにおける経過を検討した場合に感作モルモットと異なる点は、初期の滲出性炎より次第に増殖性炎に移行して感作動物にみられたごとき2相性の反応、すなわち滲出性炎とそれを囲繞する増殖性炎とがみられないことである。これは強い滲出性炎および分割炎、あるいはその周囲の増殖性炎の発生には動物の感作、換言すれば抗原抗体反応が重要な役割を果していることを物語るものであり、被包乾酪巣ならびに空洞の発生機転においても抗原抗体反応の占める位置の重要性を示すものであろう。

次に本実験の結果提起せられた1つの問題について述べる。それは、結核菌注射後4日ごろより滲出性炎部における変性壊死が進行するにもかかわらず軟化融解するまでは肉眼的に明瞭な壊死乾酪巣の発生を認めえないことである。このことは組織学的にはともかく、肉眼的には乾酪物質の形成——すなわち乾酪化の過程——を経ずに結核病巣の軟化融解が起ることを示すものであり、結核病巣の液化が凝固壊死の一種である乾酪化の過程のうちに起るといふ従来の考え方が必ずしも正しくないことを立証するものといえよう。

結 論

流動パラフィンに浮遊せしめた結核菌（人型結核菌 H₃₇Rv株）をモルモットの肺臓内に直接注射し、注射局所における組織反応の推移を観察した。

1) 感作モルモットにおいては初期より強い滲出性炎が発生し、その部分は4日後より変性壊死に陥り20~30日後に軟化融解する。滲出性炎の周囲には注射後2日後

より類上皮細胞、線維芽細胞などの増殖が始まり4日後には膠原線維の形成も認められ、さらに14日後にはほとんど完全な結合織性被膜が形成される。

2) モルモットの肺臓に空洞の発生しがたい原因は、著明な結合織性被膜が早期に形成せられ壊死乾酪巣の軟化融解に先だつてそれを被包し、とくに灌注気管支を圧閉して軟化壊死物質の排出を妨げるためと考えられる。

3) 非感作モルモットを用いた場合には滲出性炎から次第に増殖性炎に移行し、感作モルモットにみられたごとき著しい2相性の反応を示さない。これは強い限局性の滲出性炎あるいは分割炎の発生に結核性抗原抗体反応が重要な役割を果していることを示すものであろう。

4) 結核病巣の軟化融解には必ずしも乾酪化の過程を必要としない。とくに強い滲出性炎の発生した場合には急速に壊死に陥り軟化融解する。

本稿を終えるにあたり御教閲を頂いた院長渡辺三郎博士、ならびに御指導、御鞭撻を頂いた九州大学教授山村雄一博士に厚く感謝致します。なお本研究は厚生省治療研究費により行われた。ここに記して謝意を表します。

本論文の要旨は第32回結核病学会総会において発表された。

参 考 文 献

- 1) 山村雄一・矢坂茂・山口正民・遠藤一男・竹内弘之・中村滋・小川彌栄：結核，29：143，昭29。
- 2) 山村雄一・中村滋・矢坂茂：結核のアレルギー，医学書院，昭31。
- 3) 竹内弘之・高啓一郎：結核，32：149，昭32。
- 4) 高啓一郎・竹内弘之・中村滋・小川彌栄・平山稔：結核，32：677，昭32。
- 5) 高啓一郎・中村滋：アレルギー，4：217，昭29。