

テンジクネズミの実験的結核性髄膜炎について

2. 脳内接種された結核菌の各臓器における消長

高 橋 宏

国立予防衛生研究所結核部 (部長 室橋豊徳)

受付 昭和34年2月16日

実 験 成 績

結核菌の一定菌量をテンジクネズミの脳内に接種すると、接種量に相応して動物の死亡がおり、また接種菌の菌力が強いほど、短期間に動物が死亡することを前報告¹⁾に述べた。この場合接種菌が脳および他臓器においていかなる消長をたどるかを定量的に追求した報告はきわめて少なく、わずかに Pierce²⁾ら (1953年) がハツカネズミの脳内接種において接種菌の消長を菌力と関連させて報告している程度である。

本実験においては、菌力を異にする結核菌を脳内接種したのち、各臓器に散布された菌の消長を定量的に追求した。さらに菌の消長に伴う生体側の変化、主として脳、脊髄における病変を組織学的にしらべたので、その特徴について報告したいと思う。

実 験 方 法

体重 360~460 g で Römer 反応陰性のテンジクネズミを各菌株につき 5~10 匹用いた。脳内接種後 1 日, 1, 2, 4, 6 週の各時期と死亡時とに剖検し、脳、脾、肺のおおのこの臓器について定量培養を行った。このうち脳では培養部位によつて分離菌数の不均一性がみられたので¹⁾左大脳半球全部を培養することとし、脾、肺では菌分布をほぼ均一と考え、臓器の一部約 300 mg について培養を行った。まず、臓器を乳鉢でよくすりつぶし、1% NaOH で 100 mg/ml の乳剤を作り、蒸溜水で 10 倍段階稀釈して小川培地に定量培養し、各臓器 10 mg 中の生菌単位数を算定した。

使用菌株は、H₃₇Rv, H₂-Streptomycin 100 γ 耐性、青山 B, Frankfurt, BCG, H₃₇Ra, 18-b (H₂-SM 依存性) の 7 菌株である。各菌株は第 1 報に述べたと同一の培養条件の凍結乾燥菌である。

病理組織学的検索は次のように行った。

すなわち脳、脊髄、脾の臓器を 7 倍のホルマリンで固定し、パラフィン包埋を行った。

脊髄については、脊椎のついたまま固定してあとではがすようにした。染色はヘマトキシリン・エオジン重染色法で行い、結核菌の染色には、組織切片内の結核菌検出の容易な、ビクトリアープラウによる Hallberg 法の³⁾変法³⁾を用いた。

左大脳半球内における各接種菌の生菌数の消長は表 1 に示すごとくである。これら接種菌の生菌数は、H₃₇Ra だけが 1 order 低いが、他の 6 菌株では 11.4×10^5 (BCG) から 37.4×10^5 (H₃₇Rv) の範囲内にありほぼ等しい。接種後 1 週目はすべての菌株において生菌数に著しい増減がみられないが、2 週目になると弱毒菌ならびに無毒菌株 (BCG, H₃₇Ra, 18-b) を除いた毒力菌接種群では、接種後 1 日および 1 週目の生菌数の 10~20 倍に増加している。その後、強毒菌の H₃₇Rv 群では 21, 22 日に、また H₂-SM-R 群では 22, 24 日の死亡時に、それぞれ多少ではあるが生菌数がさらに増加している。しかし、青山 B, Frankfurt の 2 菌株接種群ではその消長はやや異なっていた。すなわち、青山 B 株接種動物についてみると、死亡時の生菌数は 2 匹中 1 匹は 2 週目の生菌数より低い値を示している。また Frankfurt 株接種動物においても生菌数は接種後 2 週目にピークに達し、4, 6 週と減少し、38 日および 56 日目に死亡した動物では 2 週目に比べてかなり少なくなっている。すなわち、生菌数の最大になる時期と死亡時期とは必ずしも一致しないことが認められる。これに対して、BCG, H₃₇Ra, 18-b 各接種群においては、接種後 2 週までは 1 日目と生菌数に大差はないが、以後 H₃₇Ra, 18-b は 4 週、BCG は 6 週までに次第に生菌数を減じ消失に向っている。

脳内に接種した菌が直接に、あるいは脳において分裂増殖したのち、体の他の部位に散布することは表 2 より明らかにかがえる。表 2 では 1 日後にすでに脾、肺に菌が転移しており、脾では 2 週までに著しい菌数の増加がみられる。肺でははじめに散布する菌数が脾に比べてさらに少なく、増加も脾ほど著しくない。

また、毒力菌接種の場合に、肺では死亡時にもつとも生菌数が多く、脾でも全く肺と同様であるが、青山 B, Frankfurt 接種群においては、死亡時にはかえつて脾における生菌数が少なくなっている。

強毒菌 H₃₇Rv, H₂ 株を接種して、3 週間後で死亡した動物の肉眼的病変は、頸部リンパ腺の腫脹、硬脳

表 1 各菌株を左大脳半球内に接種したのちの左大脳半球 10 mg 中の結核生菌の消長

接種菌株 および 生菌数	H ₃₇ Rv 37.4×10 ⁵	H ₂ -SM-R 15.6×10 ⁵	青山 B 25.8×10 ⁵	Frankfurt 16.4×10 ⁵	B C G 11.4×10 ⁵	H ₃₇ Ra 67.6×10 ⁴	18-b 12.0×10 ⁵
接種後日数	8,000 7,000	1,700 1,500	5,000	900	650 750	170 410	2,700 2,200
1 週	7,200 4,200	1,600 2,500	6,000	1,700	1,100 800	150 550	2,900 3,300
2 週	25,000 72,000	31,000 35,000	47,000	14,000	1,300 600	610 490	900 2,000
4 週				2,500	140 440	35 8	80 140
6 週				900	15 18	6 0	0 0
死亡時	47,000 (21) 42,000 (22)	50,000 (22) 45,000 (24)	70,000 (20) 9,000 (28)	3,000 (38) 1,100 (56)			

注： ※各数値は各時期に殺した動物 2 匹の値を併記した。なお青山 B, Frankfurt 株接種動物は 1 匹ずつである
死亡時の欄中にある () 内の数値は接種後の死亡日数を示す

表 2 各菌株を左大脳半球内に接種したのちの脾臓, 肺臓 10 mg 中の結核生菌の消長

接種菌株	H ₃₇ Rv		H ₂ -SM-R		青山 B		Frankfurt		B C G		H ₃₇ Ra		18-b	
	肺	脾	肺	脾	肺	脾	肺	脾	肺	脾	肺	脾	肺	脾
接種後日数	2		0		4		3		0	15	0	2	0	9
1 日	16	20	4	2		48		30	6	10	7	17	0	5
1 週	50	400	45	64	1	50	55	100	0	5	0	9	0	13
	65	39	6	35					0	6	0	3	0	33
2 週	8	1,700	25	1,500	250	5,700	30	3,000	1	4	0	1	0	15
	10	1,600	20	1,100					0	0	0	24	4	78
4 週							20	310	0	13	1	10	0	0
									0	6	0	0	0	5
6 週							9	300	0	1	0	0	0	0
									0	1	0	5	0	0
死亡時	200	4,400 (21)	250	2,900 (22)	270	3,000 (20)	350	1,000 (38)						
() 内の数値 は死亡日数	150	4,400 (22)	200	1,800 (24)	190	600 (28)	1	260 (56)						

膜の混濁、肥厚ならびに軟脳膜の肥厚、血管の充血が主であり、他に結核性病変は全くみられない。組織学的には軟脳膜および脳室上皮に著しく厚い結核性肉芽組織が形成されており、そこに軽度の壊死がみられるものもある。また、この肉芽組織の形成は全般的におこり、脳底部にとくに著明であるとはいえず、その病巣は主として類上皮細胞からなり、多形核白血球やリンパ球をまじえているが、フィブリンの滲出が少ない。この軟脳膜の肉芽組織がところにより脳実質内に破壊性に侵入している像がみられる。

脊髄においても軟膜に肉芽組織の形成が著明であるが、実質内に破壊性に侵入するような病変はほとんど認められない。組織内の可染菌は軟脳膜、脳室上皮および脊髄軟膜の病巣部に多数みられた。脾では類上皮細胞結節がみられたが非常に小さく、可染菌は宿主細胞の変性一崩壊を伴わないで多数病変部にみられた。

考 察

この実験に用いた結核菌の各菌株の菌力はすでにテンジクネズミにおいて皮下または静脈内接種により決定されたものである。菌株の菌力の強弱が各臓器における菌の増殖力の程度によつてもつともよく反映されるものと考えられるならば、脳内接種菌の消長は他臓器における消長と非常に似ているといえる。すなわち強毒菌は著しく増殖し、弱毒菌は増殖率低くやがて消失に向い、無毒菌は単に生存を続けるのみで増殖せず、やがて菌数は減少の一途をたどつて遂には全く消滅してしまう。これらの傾向は Pierce らがハツカネズミの脳内に接種した各種結核菌の消長について報告した結果とほぼ同じである。

強毒菌脳内接種の場合に発現する症状、死亡は明らかに菌の増殖と密接な関係にあると思われるが、青山 B 株や Frankfurt 株接種の場合のように生菌数の最大になる時期と動物の死亡する時期がずれていることから考えると、動物の死亡にはある程度の菌体量およびこれに相応した宿主側の変化が必要なのではないかと思われる。BCG, H₃₇Ra, 18-b の各菌株接種群でも 2 週までかなりの生菌数が維持されているが、菌量の増加が少ないために、体重の減少や症状の発現をきたさないであろう。

このような考察に対して Levaditi⁴⁾ らは、むしろ脳から他臓器へ散布され増殖する菌を動物の死因として重視している。しかし脳内接種により死亡した動物の肺、肝、脾等の臓器には肉眼的にはほとんど結核性病変を認めないことから、各臓器における菌数の増加は脳からの直接の散布が主と思われ、したがつて臓器における破壊性変化は死因となるほど著しくないものと考えられる。他方脳以外の臓器に菌数の増加がいかなる原因にせよ死亡時まで続くことは、宿主側の防禦反応の発現が弱いこ

とを示すものであろう。

組織学的所見では髄膜における病変がもつとも著しく、菌の増殖はこの部位において活発におこっているものとみられる。脳内に接種された菌は接種部位から脳室および全髄腔内にひろがって、その表面に肉芽組織を形成するのであろう。肥厚のみで結節性変化が認められないのもこのためであろう。この意味において実験的髄膜炎という表現は不当ではないと思われるが、ヒトの結核性髄膜炎とはとくに局在する部位がみられないことおよび線維素性滲出が著しく乏しいことの 2 点が異なつていようである。なお武田⁵⁾ らがアレルギー性髄膜炎の特徴としている小動脈壁のフィブリノイド変性は認められなかつた。

結 論

菌力を異にする結核菌をテンジクネズミの脳内に接種したのちの脳、脾、肺内の菌の消長を定量的に追求した。

- 1) 強毒菌接種においては各臓器とも著しい増殖がみられ、その菌数の最高のときに死亡する。
- 2) 中等度菌力と評価される青山 B, Frankfurt においては、菌数の最高の時期からかなりおくれ、菌数の少なくなつたときに体重の減少、症状の悪化が著しくなつて死亡する。
- 3) 弱毒菌接種においては、無毒菌に比べて多少長く脳内に菌を認めるが、いずれも菌の増殖はみられなかつた。
- 4) 脳から他臓器への菌の散布は接種後早くからみられるが、少なくなつて肉眼的病変をつくることは少ない。
- 5) 組織学的には髄膜、脳室上皮に線維素性滲出の少ない、増殖性の結核性肉芽組織が著明に認められるが、とくに脳底脳膜炎というほど脳底部にのみ著しくはない。

擲筆に臨み御懇篤な御指導をいただいた前部長柳沢博士、現部長室橋博士、主任橋本博士ならびに病理組織学的所見に御指導を仰いだ予研病理江頭部長に深甚なる謝意を表する。

文 献

- 1) 高橋 宏：結核，31：212，昭31。
- 2) Pierce, C.H., Dubos, R.J. & Schaefer, W.B. : Jour. Exp. Med., 97: 189, 1953.
- 3) 室橋豊穂・吉田幸之助：日本医事新報，—1609, 27, 昭31。
- 4) Levaditi, C., Vaisman, A. & Chaigneau-Erhard, H. : Ann. Inst. Pasteur, 84: 630, 1953.
- 5) 武田勝男・新保幸太郎：北海道医学誌，15：2967, 昭12。