

# てんじくねずみの心臓内に接種された結核菌の 各臓器内分布とその後の推移

とくにそれに及ぼす生菌免疫の影響

平 沢 亥 佐 吉\*

多 田 茂 樹・石 津 宏\*\*

\* 静岡県立富士見病院

\*\* 静岡県衛生部

受付 昭和 35 年 6 月 13 日

## I 緒 論

静脈経路を介して動物の体内に接種された結核菌の各臓器内分布とその後の推移に関しては、Lurie<sup>1)</sup>の家兎についての詳細な報告があり、また小川ら<sup>2)</sup>は二十日鼠について同様な報告を行なっているが、てんじくねずみについてはあまり報告されていない。

次に免疫された実験動物に攻撃試験を行なう場合、皮下接種よりも静脈内に接種するほうが、優れていることは、皮膚の Koch 現象による菌への影響を避ける意味で当然であり、Lurie<sup>1)</sup>は家兎において、Dubos ら<sup>3)</sup>、阿部<sup>4)</sup>は二十日鼠において、また橋本ら<sup>5) 6)</sup>はてんじくねずみにおいて、静脈内感染によつて免疫動物に感染を行ない、感染菌の増殖が抑制されるのを見、この増殖抑制作用を抗結核免疫の本質とみている。

なお Pierce ら<sup>7)</sup>は二十日鼠の各臓器内の結核菌の増殖をみるには、静脈内接種法が、脳内、腹腔内および皮下接種法に比して優れており再現性に富んでいと述べている。

われわれはてんじくねずみにおいて、静脈内接種よりも手技の容易な心臓内接種により、結核菌を接種し、菌の各臓器内分布を追求し、さらに有毒結核菌感染によつて免疫されている動物に、心臓内接種によつて再感染を行なつた場合、再感染に用いた菌の臓器内分布が、非免疫動物の場合と異なるかどうか、またその後の増殖がいかに影響されるかについて追求すべく、ストレプトマイシン（以下 SM と略す）感性菌皮下接種 8 週後のてんじくねずみに、SM 耐性菌を心内接種し臓器内の SM 耐性菌を、SM 感性菌と対比しながら追求した。

## II 実験方法

使用動物：体重 400 g 前後の旧ツベルクリン 100 倍液 0.1 cc 皮内接種に反応陰性の健康なてんじくねずみ。

使用結核菌種：① BCG（乾燥ワクチン）。② 人型

有毒結核菌陸 F 株（Sauton 培地培養 3 週のもの）。③ H<sub>37</sub>Rv SM 1,000 mcg/ml 耐性株（試験管内にて耐性菌となし、SM 200 mcg/ml 含有 Sauton 培地に培養 7 日のもの）。

心臓内接種：左胸骨縁より心臓内に注射し血液の逆流を確認後、接種した。

臓器内結核菌定量培養：各臓器の適当量を滅菌乳鉢にとり、1% NaOH を加えて 1 ml 当り 100 mg の乳剤を作り、その 0.1 ml 宛、およびその 10 倍稀釈液の 0.1 ml 宛を、1% 小川培地 3 本に接種して、発育してくる集落数を数え、3 本の平均集落数を各臓器 10 mg 中の生菌数とした。なお血液中の結核菌による影響を避ける意味で、屠殺後の瀉血にはとくに意を用いた。

血液からの結核菌培養<sup>8)</sup>：10% クエン酸ソーダ 0.2 ml 入れた注射器に心臓穿刺によつて血液を 2 ml 吸引し、滅菌蒸溜水 8 ml を加えて溶血せしめ遠心沈澱を行ない、沈渣に滅菌蒸溜水を加えて 2 ml となし、その 0.1 ml 宛を 1% 小川培地 3 本に接種し、3 本の培地に発育した集落数の平均を血液 0.1 ml 当りの生菌数とした。

## III 実験および実験成績

〔実験 1〕心臓内接種された結核菌の各臓器内分布：BCG 乾燥ワクチンより調製した 0.05 mg/ml の菌液 0.2 ml（生菌数：17×10<sup>8</sup>）宛をてんじくねずみ 10 匹の心臓内に接種し、3 時間後に 3 匹、24 時間後に 7 匹屠殺し、肺、肝、脾、腎、副腎および血液中の生菌数を求めた。

表 1 にみるごとく、接種 3 時間後には血液中から相当数の菌を証明したが、24 時間後には少数の菌しか証明しえなかつた。

肺では 3 時間後に比し 24 時間後には、菌数が減少する傾向にあつた。肝では 3 時間後と 24 時間後との間に明らかな増減がみられなかつたが、脾では明らかに増

表 1 心臓内接種 3 および 24 時間後の臓器内結核菌分布

接種後	動物 No.	肺	肝	脾	腎	副腎	血液
3 時間	1	19	16	52	1/3	0	3
	2	27	26	15	1/3	0	25
	3	52	24	48	0	0	9
24 時間	4	7	30	37	0	1/3	1/3
	5	9	27	123	0	1/3	2
	6	7	51	79	0	0	0
	7	5	41	79	0	0	1/3
	8	4	33	53	0	0	0
	9	16	13	108	0	/	/
	10	13	19	53	0	/	10

注: 1) 表中の数字は臓器 10 mg 中の生菌数。ただし血液は 0.1 ml 中の生菌数。  
2) / は雑菌混入による判定不能を示す。以下の表も同じ。

加していた。

腎からは、3 時間後には少数の菌が検出されたが、24 時間後には全然見出されなかつた。副腎からは 3 時間後には見出されなかつたが、24 時間後には少数ながら検出された。

接種 24 時間後の菌の分布は、臓器 10 mg 当り脾がもつとも多く、ついで肝、次に肺の順に多かつた。

〔実験 2〕生菌免疫に及ぼす生菌免疫の影響：てんじくねずみ 26 匹のうち、12 匹に SM 感性有毒人型結核菌陸 F 株 0.1mg (生菌数:  $5.6 \times 10^5$ ) を皮下接種 (免疫群—再感染群) し、残り 14 匹 (非免疫群—初感染群) は放置した。皮下接種 8 週後、免疫群のツベルクリン反応の陽性なることを確かめて、両群全部に H<sub>37</sub> SM 耐性菌 0.01 mg (生菌数:  $50 \times 10^8$ ) 宛を心臓内に接種し、24 時間、7 日、4 週後に各群数匹屠殺解剖検し、病理学的所見とともに臓器内生菌数を求めた。すなわち臓器乳剤を SM 100 mcg/ml 含有および非含有 1% 小川培地に接種し、SM 含有培地に発育してきた集落数から心臓内接種 (再感染) に用いた SM 耐性菌の臓器内生菌数を決定し、また SM 非含有培地に発育した集落数と SM 含有培地のそれを対比して免疫に用いた SM 感性菌の臓器内生菌数を推定した。

①心臓内接種 24 時間後の結核菌臓器内分布は表 2 にみるごとく非免疫 (初感染) 群では、実験 1 とほぼ同じであるが、免疫 (再感染) 群では、各臓器からとも、非免疫群の約 1/10 程度の菌数しか証明されていない。また免疫群の血液からは全然菌が証明されなかつた。次に免疫に用いた SM 感性菌と、再感染に用いた SM 耐性菌との臓器内生菌数との間には、なんらの関係も見だせなかつた。

②表 3 に心臓内接種 7 日後の各臓器内生菌数を掲げた。非免疫群では 24 時間後に比し肺、肝ではほとんど

表 2 血行感染に及ぼす有毒生菌免疫の影響 (1) 心臓内接種 24 時間後の結核菌の臓器内分布

実験群	動物 No.	肺	肝	脾	腎	血液
初(非免疫)群	1	6	25	38	0	0
	2	6	28	29	1	2.3
	8	125	42	31	0	2/3
再(免疫)群	69	2(2)	1(/)	2(/)	0(/)	0
	70	*33(103)	*2(400)	*11(200)	5(7)	0
	76	1(1/3)	2/3(4/3)	*0(33)	0(/)	0

注: 1) 表中の数字 ( ) なしは SM 100 mcg/ml 含有培地に発育した集落数より決定された。心臓内接種された SM 耐性菌の臓器 10 mg 中の生菌数。  
2) ( ) 内の数字は SM 非含有培地に発育した集落数より決定された臓器 10 mg 中の全生菌数。  
3) \* は免疫に用いた SM 感性菌の多量の存在したと考えられる場合を示す。

表 3 血行感染に及ぼす有毒生菌免疫の影響 (2) 心臓内接種 7 日後の臓器内生菌数

実験群	動物 No.	肺	肝	脾	腎	血液
初(非免疫)群	3	2	3	59	0	1/
	4	24	60	152	6	1/
	7	29	59	104	0	0
再(免疫)群	62	25(28)	*15(140)	*39(300)	0	0
	73	0(0)	*2(15)	10(39)	0	0
	81	1(1)	4(4)	16(36)	0	0

注は表 2 に同じ。

菌数が殖えていながつたが、脾ではやや増加の傾向がみられた。なお腎からも 3 匹中 1 匹から、血液からも 3 匹中 2 匹から少数の菌が見出された。

免疫群では、肺、肝では 24 時間後に比し殖えていず脾でやや菌が殖えており、非免疫群と同様な態度を示したが、その絶対数は明らかに少なかつた。

なお SM 感性菌と耐性菌との各臓器内生菌数の間にはなんらの関係もみられなかつた。

③心臓内接種 4 週後の各臓器内生菌数を表 4 に示した。非免疫群では各臓器とも 24 時間および 7 日後に比し著しく生菌数が増加し、大体 24 時間後の  $10^2$  ないし  $10^3$  倍程度の生菌数となつた。腎からも 8 匹中 5 匹から少数ながら菌を検出しえた。副腎からは培養を実施した 4 匹とも、相当多数の菌が証明された。

一方免疫群においては、いずれかの臓器で明らかに菌の増殖がみられたのは、6 匹中 3 匹で、No. 65 と No. 79 は脾、肝に、No. 68 に菌の増殖がみられた。残りの 3 匹には、増殖はほとんどみられず、生菌数は大体 24 時間後の水準に止まつていた。なお、SM 耐性菌と感性菌との臓器内生菌数の間には、24 時間および 7 日後と同様ななんらの関係もみられなかつた。

表4 血行感染に及ぼす有毒生菌免疫の影響(2)  
心臓内接種4週後の臓器内生菌数

実験群	動物No.	肺	肝	脾	腎	副腎	
初感染群(非免疫群)	5	5,200	3,600	1,400	1/3		
	6	2,800	410	650	0		
	9	280	830	2,200	0		
	10	620	2,700	2,500	1		
	92	260	630	2,400	3	47	
	93	1,200	2,900	5,600	4	82	
	99	6,100	5,200	8,400	1/3	41	
	100	740	680	1,600	0	7	
	再感染群(免疫群)	65	10 (13)	137 (143)	420 (460)	0 (0)	
		67	18 (21)	24 (18)	13 (10)	*0(17)	0(0)
68		300 (290)	*13(1,100)	1,300(1,400)	4(5)		
71		*1(13)	5(10)	5(10)	0(0)	*0(49)	
73		1(4)	*32(400)	39(63)	0(0)		
79		0(1/3)	59(68)	288(291)	1(0)		

注は表2に同じ。

次に免疫群と非免疫群との臓器およびリンパ腺の肉眼的病変を比較すると、表5にみるごとく、非免疫群では接種1週後には全然肉眼的病変を認めなかつたが、接種4週後には、内臓、リンパ腺の病変は著しかつた。なお脾重量も接種1週後の約10倍に増していた。それに反し、免疫群では心内接種1週後の生菌免疫による病変(心内再感染24時間後の剖検で確認された)と比して、4週後の病変はほとんど悪化を示さず、脾重量の増加もわずかであつた。

IV 総括ならびに考案

てんじくねずみの心臓内に接種された結核菌が、24時間後には、単位重量当り、脾にもつとも多く、ついで肝、肺の順に分布されることは、Lurie<sup>1)</sup>の家兎における、また小川ら<sup>2)</sup>の二十日鼠における成績とほぼ一致している。ただし本実験では、腎からの検出率がやや少ないように思われた。Lurieは脳内接種の実験から、24時間後には菌が流血中から証明しえなくなるとしているが、この実験では、少数ではあるが、24時間後に

表5 血行感染に及ぼす有毒生菌免疫の影響(4)  
臓器およびリンパ腺の肉眼的病変

実験群	心臓内接種7日後							心臓内接種4週後												
	動物No.	皮接局 下種所	左壁 膝腺	後 腹 膜 腺	門 脈 管 腺	気 管 腺	肺 肝 脾	脾 重 量	動物No.	皮接局 下種所	左壁 膝腺	後 腹 膜 腺	門 脈 管 腺	気 管 腺	肺 肝 脾	脾 重 量				
初感染群(非免疫群)	3								5	-	-	+	+	+	+	5.5				
		6						0.4	6	-	-	-	-	+	+	+	4.8			
		9							9	-	-	+	-	+	+	+	1.8			
		10							10	-	-	-	-	-	+	+	+	3.5		
		92							92	-	-	-	-	-	+	+	+	4.4		
		93							93	-	-	-	-	-	+	+	+	3.3		
		99							99	-	-	-	+	-	+	+	+	3.3		
		100							100	-	-	-	+	-	+	+	+	3.6		
		再感染群(免疫群)	62	⊕	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	0.8
				73	⊕	⊕	-	-	-	-	+	+	+				+	-	+	0.8
81	⊕			+	-	+	+	-	-	-					+	+	-	1.0		
65	⊕			⊕	-	-	-	-	+	+	+				+	+	+	1.7		
67	-			+	-	-	-	-	+	-	+				+	-	+	1.0		
68	-			+	-	-	-	-	+	+	+				+	+	+	1.3		
71	⊕			+	-	-	-	-	+	-	-				+	-	-	0.7		
75	⊕	⊕	-	-	-	-	+	+	-				+	+	-	1.0				
79	-	-	-	-	-	-	+	-	+				+	-	+	1.0				

注：+, +, ⊕ は病変の程度を示す。- は病変なし。⊕は膿瘍化を示す。

1) 接種局所：+…米粒大腫脹, ⊕…小豆大腫脹, ⊕…大豆大以上の腫脹。

2) リンパ腺：接種局所に同じ。

3) 臓器：+…結節数<10, ⊕…結節10以上, ⊕…結節多数。

はもろん7日後においても、なお流血中より菌が証明されたことは注目されねばならない。

次に7日後には、肺、肝で24時間後に比し菌数は増していないのに、脾では明らかに増殖している。これは脾ではすでに増殖が起つていると考えてもよいと思

われるが、また流血中の菌が、24時間後も脾に定着され続けたとも考えられる。

結核免疫の本質としてLurie, Dubosら、阿部、橋本らはいずれも、免疫動物に静脈内感染によつて攻撃を行なつた場合、感染菌の増殖の抑制される事実をあげて