

# 吸入感染による結核菌感染初期像の細菌学的病理学的研究

## 第1編 吸入感染装置と微量菌吸入感染の経過について

下 出 久 雄

国立療養所東京病院

豊 原 希 一

結核予防会結核研究所

受付 昭和 41 年 4 月 15 日

## BACTERIOLOGICAL AND PATHOLOGICAL STUDY ON THE CHANGES IN THE EARLY STAGE BY AIRBORNE INFECTION WITH TUBERCLE BACILLI\*

Hisao SHIMOIDE and Mareichi TOYOHARA

(Received for publication April 15, 1966)

The apparatus for airborne infection with tubercle bacilli was improved to increase efficiency, safety and uniformity of the experiment. By this apparatus the multiplication of tubercle bacilli in vivo and the pathohistological changes of lungs in early stage after infection were observed on guinea pigs.

### 1. The first experiment

Forty-one guinea pigs were forced to inhale a small dose of tubercle bacilli (strain of H<sub>37</sub>Rv), and at once, at the first week, the second week, the third week and the fourth week after infection each seven to nine guinea pigs were killed, and then the number of tubercles and that of viable bacilli were counted separately in the upper and the lower pulmonary lobes. Nine colonies grew from cultivation of 1800 mg of lungs of guinea pigs that were killed at once after infection. From this result the number of the inhaled bacilli was estimated to be about twenty to twenty-five. The number of viable bacilli increased only about two times in a week after infection, but increased remarkably (about 240 times) in the second week and considerably (about 47 times) even in the third week after infection. At the fourth week bacilli almost stopped to increase.

There was no difference of number of bacilli between the upper and the lower lobe.

### 2. The second experiment

Fifteen guinea pigs were infected with a large dose of tubercle bacilli. Three guinea pigs were killed at once after the infection and each two guinea pigs were killed at the second, fourth, seventh, ninth, eleventh and fifteenth day after infection. The right lung was homogenized and cultivated. On the other hand the pathohistological examination of the left lung was made. Neither microscopic lesions nor bacilli were found till the fourth day of infection, but they became to be found rather easily from the seventh day of infection. After seven to nine days of infection some alveolar macrophages containing a few bacilli were found in the alveolar walls. After eleven to fifteen days of infection some of alveolar spaces were filled by

\* Tokyo National Chest Hospital, 3-1-1, Takeoka, Kiyose-machi, Kitatama-gun, Tokyo, Japan.

the cluster of alveolar macrophages containing a good number of bacilli, and infiltration of leucocytes increased gradually.

### 3. The third experiment

Thirty mice were divided in three groups of each ten mice. Mice of each group inhaled aerosol of BCG suspension respectively for 30, 75 and 105 minutes. All mice were killed as soon as inhalation was finished and each lung of them was blended and cultivated. Although the variation of the number of bacilli inhaled in each lung was rather large, the average of them was well proportional with the inhalation's time.

## 緒 言

結核菌の感染実験には種々の感染方法があり、実験の目的によつて一長一短があるが、人体に対する結核菌の感染、発病、免疫形成等の機序を実験的に検討するためには自然の感染様式に近い方法が選ばれるべきである。

感染経路の差によつて菌の毒力に差が認められることはわれわれの過去の実験や他の多くの研究者の報告で認められている<sup>1)~3)</sup>。

しかし吸入感染法は他の感染法に比し、実験の危険性、感染菌量の定量化の困難さ等があり感染装置の完成が第一の課題となる。われわれは昭和 31 年以来簡単な吸入感染装置を試作して実験を行ない<sup>4)~10)</sup>、十分に種々の目的に利用しうることを確かめたが、今回はさらに実験の能率化と安全性を高めるために感染装置の改良を試み、新装置により微量菌吸入感染後の肺における菌の増殖過程や吸入感染早期の肺内病変の推移を観察した。

研究方法 (吸入感染装置について) (Fig. 1)

菌の aerosol の作製は治療用の stand nebulizer (トノクラ製) を利用した。菌の aerosol は気密にされた感染室の下部中心から吹き出させ八角型の感染室の周囲のゴムマスクに頭部を固定された動物 (モルモット 16 匹または家兎 8 羽) の鼻先を通して気流を流し、Gas-burner による焼却筒に導いて滅菌した。Nebulizer には常に一定の圧 (4 kg/sq. cm) の圧搾空気が Compressor から送り込まれ (流量 11.1 l/min) 長時間の吸入実験も一定の条件のもとに自動的に行なわれる。感染後は感染室の上蓋につけられた 2 本の殺菌灯 (National B 殺菌灯 GL 10) を点灯し、新鮮な空気を送気して菌の aerosol を洗い流した。(10~15 分間新鮮な空気を流したのちに動物を入れた円筒型 Chamber を取りはずし動物を取り出す。マウスの感染実験では籠に入れたマウスを直接感染室内に入れて感染させる。)

[第 1 実験: 肺内に吸入された微量結核菌の増殖、病変形成過程について]

[A] 実験方法と材料

前述の感染装置を用い体重 400 g 前後の雄モルモット

Fig. 1. Apparatus for Droplet Nuclei Infection

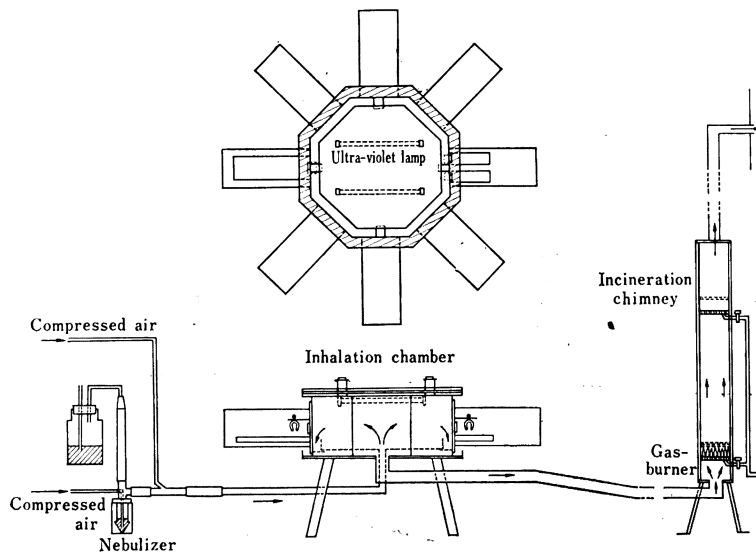
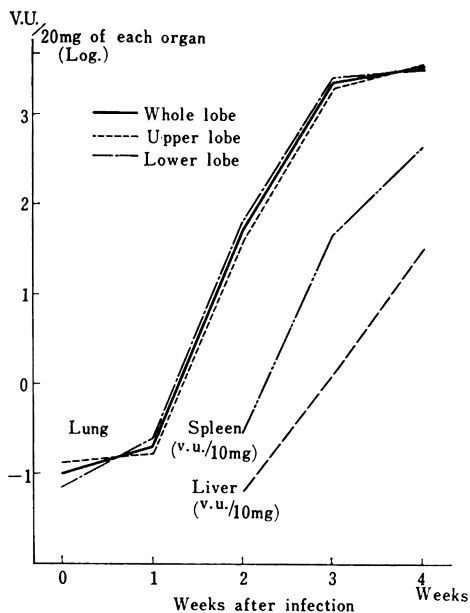
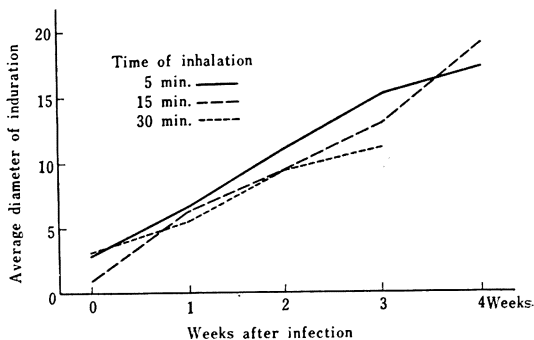


Fig. 2. Changes in Viable Units of Bacilli in Each Organ (The 1st exper.)



ト 41 匹に人型結核菌  $H_{37}Rv$  株 (Sauton 培地 15 日培養菌) を吸入感染せしめた。吸入時間は 5 分 (14 匹) 15 分 (13 匹), 30 分 (14 匹) に分け, 感染直後および 1, 2, 3, 4 週後に各 2~3 匹を屠殺剖検し, 上下葉別に全肺をホモジナイザーで均等化し, 1% 小川培地に培養し肺内生菌数を測定した。(感染直後は上下葉別に 1 匹当り肺 100 mg を培養した。)

Fig. 4. Changes in Tuberculin Reaction (The 1st exper.)

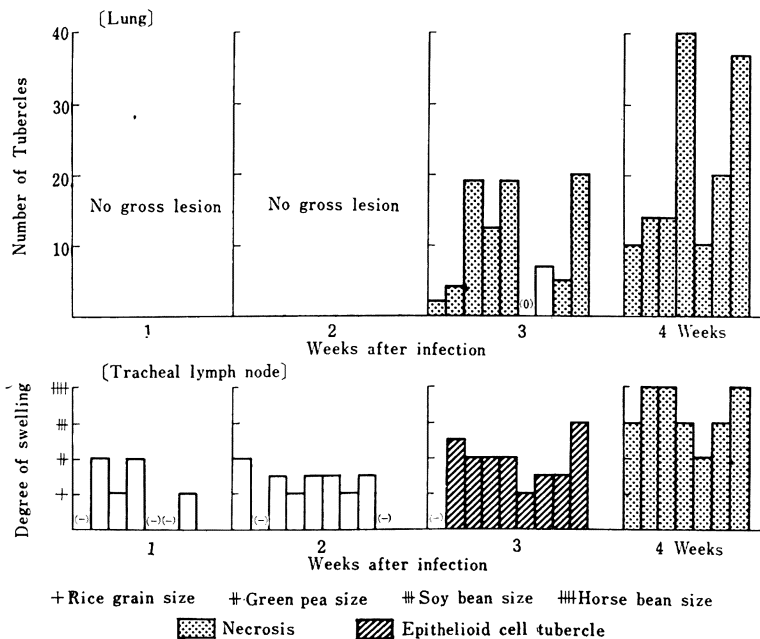


噴霧菌液には前記菌株の 0.5 mg/ml の蒸留水浮遊液を摩砕コルペンで作り, これを 1 分間 2,200 回転で 12 分間遠沈し, 上清を濾紙で濾過した濾液を使用した。この菌液の生菌数は  $13.75 \times 10^4$ /ml であった。ツベルクリン反応は 100 倍旧ツベルクリン液によつて感染前, 感染後 1, 2, 3, 4 週目に行なつた。

[B] 実験成績

吸入時間を 5, 15, 30 分の 3 群に分けたが細菌学的病理学的所見は 3 群間にほとんど差を認めえないので以下一括して経時的推移を述べる。(第 2 編に述べるマウスの感染実験によつて明らかのように, 微量菌感染では吸入時間が比較的短い場合, 5~30 分程度の吸入時間の差では明瞭な感染菌量の差を認めがたく, 差を明らかにするためには, さらに多数の動物を用いるか希釈された菌液を用いてさらに長時間かけて微量菌を吸入させる必要が

Fig. 3. Macroscopic Findings (The 1st exper.)



あるように思われる。)

#### (1) 肺内生菌数の推移 (Fig. 2)

吸入感染直後の生菌数は5, 15, 30分吸入群ともに各3匹の平均値は肺600mg中3で、上下葉別にみると上葉900mg中6(20mg中0.13), 下葉900mg中3(20mg中0.07)であつた。すなわち培養された肺1,800mg中の生菌数は9(20mg中0.1)であつた。モルモット1匹の肺重量は4~5gであつたから、1匹の感染直後の肺内生菌数は20~25程度と考えられる。

感染1週後の生菌数は上葉240mg中2(20mg中0.17), 下葉240mg中3(20mg中0.25), 上下葉計480mg中5(20mg中0.21)であり、感染直後の約2倍にすぎず、著明な増加は認められなかつた。

感染2週後の生菌数は上葉20mg中39.5, 下葉20mg中61.2, 上下葉計では20mg中50.4であり感染1週後の約240倍となり著明な増加を示した。

感染3週後の生菌数は上葉20mg中2,207, 下葉20mg中2,553, 上下葉計20mg中2,380であり、感染2週後の約47倍となりなおかなりの増加率であるが、感染第2週の増加率に比すればやや低下している。

感染4週後の生菌数は上葉20mg中3,439, 下葉20mg中3,209, 上下葉計20mg中3,324であり、感染3週後の約1.4倍にすぎず増加率は著しく低下した。

以上の成績から肺内に吸入された微量の結核菌は感染後1週間はほとんど増殖を示さず、2~3週目に著明に増殖し、第4週目には増加率が著しく低下するものと思われる。(このような所見は後述のツベルクリン・アレルギーの発現や病変形成の推移と対比してみると免疫の形成やそれに伴う組織反応と密接に関連していると思われる。)

#### (2) 肺より他臓器への菌の転移 肝, 脾の生菌数 (Fig. 2)

感染1週後までは肝脾に菌を認めえなかつたが2週後にはわずかながら菌の転移が認められ(肝10mg中0.06, 脾10mg中0.28), 以後肝, 脾ともに生菌数は急激な増加を示し3週後には肝10mg中1.28(2週後の約21倍), 脾10mg中49.2(2週後の約177倍)となり、感染4週後までなお増加を続けた。

#### (3) 各臓器の病理所見 (Fig. 3)

(a) 肺: 感染1~2週後には肉眼的病変は認めえず感染3週後に2~20コ(平均11コ)の結節が肉眼的に認めうるようになった。ほとんどの例で結節の中心に壊死が認められた。感染4週後には結節数は増加し10~40コ(平均20.7)となり、全例の結節に中心壊死が認められた。

(b) 気管リンパ節: 感染1~2週後にもわずかに腫脹が認められるものもあつたが、類上皮細胞の増殖等特殊的变化はみられなかつた。感染3週後には腫脹も強まり、組織学的にも類上皮細胞結節がかなり多数認められるようになり、結節の中に菌の増殖像が認められた。感染4週後には腫脹はさらに高度となり、組織学的には融合した多数の類上皮細胞結節が認められ、壊死に陥つた部分に多数の菌が認められた。

#### (4) ツベルクリン反応の推移 (Fig. 4)

感染1週後にすでにわずかながらツ反応の増強が認められ、2週後には25例中16例が硬結径10mm以上となり、硬結の平均値も10mm前後に増強した。感染3週後には16例中12例が硬結径10mm以上となり、4週後には7例すべてが15mm以上となり、硬結の平均値も次第に増大した。

総括は第2編に第2実験, 第3実験の報告とまとめて次号に述べる。