

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2編 吸入感染初期の組織学的観察と吸入感染菌量の均一性について

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

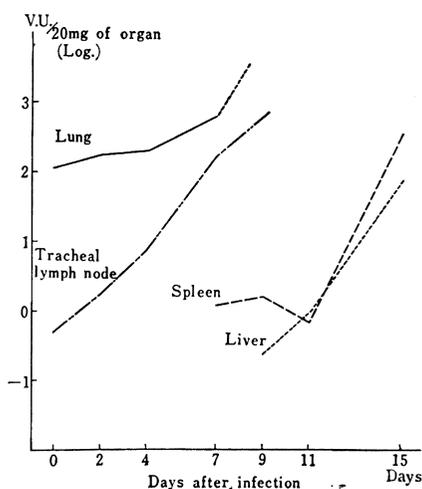
〔第2実験：感染初期の菌の増殖，病変形成過程について〕

〔A〕 実験方法と材料

第1実験と同様の感染装置と方法により H₃₇Rv 株の Sauton 培地 14 日培養菌を約 400 g の雌モルモット 15 匹に吸入感染せしめた。感染初期の変化を組織学的に観察しやすくするためには大量の菌の吸入を必要とするので，吸入時間は大部分 130 分間とし，噴霧菌液も第1実験より濃厚なものを使用した。10 mg/cc の菌液を遠心 (2,400 回転/分で 13 分間) した上清を濾紙で濾過した濾液を噴霧菌液とした。生菌数は 38.5×10⁵/cc であつた。

感染直後に 3 匹，ついで 2, 4, 7, 9, 11, 15 日後に各 2 匹を屠殺検検し，右肺を homogenize して 1% 小川培地に臓器 20~100 mg (感染 7 日後までは 100 mg 培養，以後は 20 mg 培養した。) を培養し肺内生菌数を測定し，左肺は組織学的の検索に用い，連続切片をオーラミンで蛍光染色して菌を探し，後に隈部氏法で染色し直して菌と組織変化との関係を観察した。また気管リンパ節，肝，

Fig. 5. Changes in Viable Units of Bacilli in Each Organ (The 2nd exper.)



脾内の生菌数の測定も行なつた。

吸入感染の対照として静脈内感染を同時に行ない，13 匹のモルモットに同一菌株の 1 mg/ml の菌液 (生菌数は 60.5×10⁵/cc) を 0.1 cc 静注し吸入群と同様の観察を行なつた。

〔B〕 実験成績

(1) 各臓器内生菌数の推移 (Fig. 5)

感染後各時期の肺内生菌数 (2 匹の平均) を感染直後，2, 4, 7 日後の順に述べると吸入群では肺 20 mg 中 115, 183, 206, 700, 静脈群では肺 20 mg 中 22, 135, 35, 123 で 9 日以後は集落が無数に出現して算定しえなかつた。吸入，静脈感染両群ともに第1実験と同様，感染 7 日目までは肺内生菌数の増加は著しくなかつた。吸入群の気管リンパ節内の生菌数は感染後 2 日目に臓器 20 mg 中 1.8, 4 日目に 8, 7 日目には 174, 9 日目には 700 となり，気管リンパ節内の生菌数は肺からの菌の転移の増加によつても増加しうが，感染後 7 日目までの菌数の増加は肺内より著明であつた。

(2) 肺内病変の推移 (組織学的所見)

感染直後から 4 日目までは菌ならびに病変を検出しえなかつたが 7 日目以後になると菌の検出が容易となる。吸入群では感染 7~9 日後には肺胞壁内の大食細胞の中に数コの菌が束状に充満して認められ，大食細胞はときに肺胞壁から腔内へ突出しており，また腔内に脱落しているものも認められ，細胞が崩壊して食菌されていた菌が肺胞腔内に散布されている所見もみられた。これらの食細胞は炭粉を食食しており，したがつて炭粉を目標にして検索すると食菌した細胞の検出が容易であつた。またきわめてまれに肺胞壁に単個菌が付着している像も認められたが，大食細胞内以外には菌の増殖像を認めることはできなかつた。感染後 11 日目には大食細胞の集簇は一肺胞を充たす程度に増大し，食菌した大食細胞数も増加した。さらに感染後 15 日目になると多数の肺胞腔が大食細胞と単核球によつて充たされ，菌も増加し，多核白血球が認められるようになった。(文献¹⁾によると感染された肺胞食細胞が融合して巨細胞を作ると述べら

れているが、われわれは巨細胞を認めることはできなかった。))

静脈内感染では感染7日後には一肺胞を充たす程度の大食細胞の集りが認められ、食細胞内に数コノ菌が認められるようになり、9日目には結節は数コ～十数コノ肺胞を占める大きくなり、数カ所に菌塊を認め、多核白血球が比較的多数認められた。11日目には結節はさらに数倍の大きくなり、15日目にはけし粒大となり肉眼的に認められるようになり、中心に多核白血球が多数認められ壊死に向かう傾向を示した。静脈内感染では吸入感染に比し、結節が大きく、多核白血球が多く、一結節内の食菌した細胞数が多いのが特徴のように思われる。この原因は一カ所に定着する菌量が静脈内感染のほうが吸入感染より多いからではないかと思われる。

(3) 気管リンパ節の病変(組織学的所見)

吸入感染では感染後9日目にはじめて菌が検出され、9～11日目には3～4コノ菌を含んだ孤立した単核細胞がきわめてわずかに見出だされたにすぎない。感染後15日目になると多数の小さい類上皮細胞結節が生じ、その中に多数の菌が認められるようになる。静脈内感染では9日目には吸入感染同様類上皮細胞結節は認められず、菌もまれに認められるにすぎないが、菌が検出される部位には2～3コノ菌が集まって認められた。感染後11日目には吸入感染後15日目の所見とほぼ同様に多数の小さい類上皮細胞結節がみられ、その中に多数の菌が認められるようになり、15日目には結節はさらに拡大し融合し多数の菌が認められた。

〔第3実験：吸入感染菌量の均一性について〕

〔A〕 実験方法と材料

動物は25g前後のマウス30匹を用い、感染菌株にはBCG (Sauton 培地16日培養菌)を使用した。BCG 10mg/mlの蒸留水浮遊液を作り、遠心し、上清を濾過して濾液を2倍に希釈して噴霧菌液とした(生菌数 2.4×10^7 /ml)。マウスはCageの中に15匹ずつ入れて感染室の両隅におき、噴霧開始後30分、75分、105分に各10匹ずつ感染室から出したただちに屠殺して全肺をhomogenizeして各マウスの肺内生菌数を測定した。

〔B〕 実験成績と考察

homogenizeされた各肺50～100mgを1%小川培地に培養して発生した集落数から各肺全体の生菌数を計測すると次のごとくである。(Fig. 6)

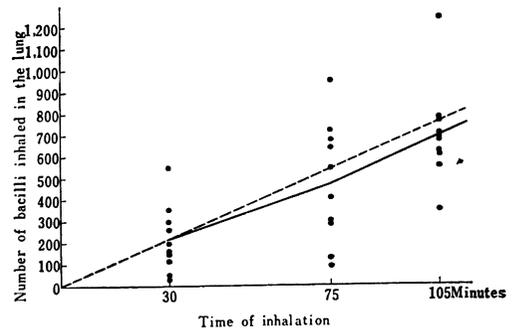
30分吸入群では22～545(平均213.9)

75分吸入群では87.8～941.2(平均469.9)

105分吸入群では343.4～1232.1(平均690.5)

各群ともかなり個体差が著しいが、各群の平均値はほぼ吸入時間と比例している。また吸入時間が長くなるにつれて個体差は少なくなる傾向がみられる。これは吸入時間が長くなるにつれて動物の運動量、呼吸量が平均化

Fig. 6. The Relation between the Number of Inhaled Bacilli and Time of Inhalation (The 3rd exper.)



されるのではないかと思われ、したがって吸入菌量の個体差をできるだけ少なくするためには吸入時間を長くするのが一つの方法ではないかと思われる。微量菌感染を比較的均等に行なうためには噴霧菌液中の生菌数を少なくし、長時間吸入させるのがよいと思われる。しかし平均10コ以下の程度の微量菌を吸入させる場合には全く菌が吸入されない個体もありうることを考慮しなければならぬので、各実験群に必要な動物数についても十分な検討がされねばならない。

考 察 (第1編、第2編を通じて述べる)

結核菌の吸入感染初期の組織学的観察はRatcliffe¹¹⁾らが家兎について行なっている以外には報告がみられない。(ただしRatcliffeらは臓器内生菌数の推移は観察していない。)

Ratcliffeらは感染後6日以内にも組織学的に肺内の菌を検出しているが、6日以内では検出に時間がかかり、切片標本200mm²に1コしか見出ださなかつたといっている。また菌は常に肺胞食細胞内に認められ、1カ所に2～3コで、感染1週間後までは感染された食細胞の見出だされる頻度はとくに増加しているとはいえなかつたと報告している。われわれは感染後4日以内には菌を組織学的に検出することができなかつたが、Ratcliffeらの所見との差は感染菌量の差によるものではないと思われる(Ratcliffeらは家兎1羽に約20,000コの菌を吸入させたと推定しており、われわれも感染直後の肺の培養から1匹のモルモットに同程度の菌が吸入されたたと推定しえた)。しかし感染後6日までは菌を組織学的に認めたいという点では所見が一致しているといえよう。われわれの肺内生菌数の測定の結果ではFig. 2, Fig. 5に示されているように感染後7日目までは生菌数はあまり増加せず、7日以後に急速に増加する所見が得られたが、この所見は組織学的所見とよく一致していた。Ratcliffeらも感染後6～9日の間に感染された食細胞の数が約10倍に増加したと述べており、われわれ

の観察でも7日目には肺内に食菌した細胞を比較的容易に見出ださうようになり、9日目には食細胞は増殖した菌によつて充たされ、11日目には食菌した細胞数が急速に増加した。ここで問題になることは感染7日目までに肺内生菌数の増加が著しくない所見は本当に菌の増殖が認められないためなのか、あるいは菌は細胞内で増殖しているが細胞内で菌塊を形成し細胞外に散布されず、食菌した細胞数が増加しないために、臓器を培養した場合の生菌数を測定しえないためなのかということである。後者の因子を裏づける観察として試験管内の実験で家兎の腹腔内の monocyte に結核菌を食菌させた場合、菌は lag phase なく感染直後から日をおつて細胞内で増殖するという報告¹²⁾がある。この実験成績をただちに生体内の現象にあてはめることはできないが、感染後7~9日までのわれわれの観察でも食菌され、増殖した菌は細胞内で菌塊をなし、外部に散布されていないので、上記のような因子も考慮する必要がある。

われわれの観察でも Ratcliffe らの成績でも感染初期には菌は常に食細胞内に見出だされ、細胞内で増殖し、細胞が破壊されるまでは細胞外での増殖は認められないように思われる。少なくとも免疫の形成されていない感染初期には食細胞は菌を増殖させる役割を果たしていると思われる。免疫が形成されている場合、侵入した菌に対して食細胞がどのように働き、感染初期像がどのように修飾されるかを今後検討したい。

上下葉間に菌増殖率、菌数の差は認められなかつたが、この成績はわれわれの家兎の吸入実験の成績と一致している⁴⁾。

また肺に形成された結節数(1匹平均 20.7)と感染直後の肺内生菌数(約 20~25)とから推測すると1コの結節を形成するのに要する菌数は数コ以内と思われる。感染菌株の毒力や動物の先天抵抗性の強弱によつて結節形成に必要な菌数は異なるが数コ以下の菌数で結節が形成されうるとは Lurie らも述べているところである¹³⁾。

結 語

吸入感染装置を改良して実験の能率、安全性、実験条件の均一性を高めることができた。

肺に吸入された結核菌の培養による生菌数は感染後1週間は増加率が低く、以後3週後まで著明な増加を示し、第4週目から再び低下する。上下葉間には吸入感染菌数および菌増加率に差は認められない。組織学的にも感染後1週以内には肺内に菌を認めたいが、1週以後肺胞食細胞内に多数の菌が認められるようになる。1コの肺内結節の形成は数コ以下の菌数で可能な場合がある。

本論文の要旨は第40回日本結核病学会総会で発表した。

終りにご校閲いただいた結核予防会結核研究所所長岩崎竜郎先生ならびに国立療養所東京病院院長砂原茂一先生に感謝致します。また研究に協力していただいた結核細菌研究室塚越兼吉、高橋てる、東京病院検査室田春能子の皆さんにお礼申し上げます。

文 献

- 1) 高橋正雄：日本細菌学会誌，12：315，1957.
- 2) 下出久雄・豊原希一：結核，36：776，1961.
- 3) 下出久雄・豊原希一：結核，38：275，1963.
- 4) 下出久雄：呼吸器診療，13：848，1958.
- 5) 下出久雄：結核，35：570，1960.
- 6) 下出久雄：結核，35：789，1960.
- 7) 下出久雄・豊原希一：結核，36：727，1961.
- 8) 下出久雄・豊原希一：結核，37：107，1962.
- 9) 下出久雄・豊原希一：結核，38：23，1963.
- 10) Toyohara, M. and Shimoide, H. : Jap. J. Tuberc., 12 : 77, 1964.
- 11) Ratcliffe, H. L. and Wells, W. F. : J. Exper. Med., 87 : 575, 585, 1948.
- 12) Hsu, H. S. : Amer. Rev. Resp. Dis., 91 : 488, 1965.
- 13) Lurie, M. B., Zappasodi, P. and Tickner, C. : Amer. Rev. Resp. Dis., 72 : 297, 1955.