

原 著

免疫された宿主における結核感染防御機構
 ——初感染巣，再感染巣における活性化マクロファージと
 ^{14}C 標識 BCG との相互関係について——

安藤正幸・志摩清・徳臣晴比古

熊本大学医学部第1内科学教室

受付 昭和50年1月30日

DEFENSE MECHANISMS AGAINST TUBERCULOSIS
 INFECTION IN THE IMMUNE HOST

The Interrelation between Activated Macrophages and ^{14}C -Labeled BCG
 in Primary BCG Lesions and those of Reinfection

Masayuki ANDO*, Kiyoshi SHIMA and Haruhiko TOKUOMI

(Received for publication January 30, 1975)

To evaluate immunopathologically the defense mechanism against tuberculosis infection in the immune host, the interrelation between activated macrophages (MN) and ^{14}C -labeled BCG was observed in BCG lesions. In normal and tuberculin-positive rabbits, multiple dermal BCG lesions were produced and biopsied at 3, 7, 10, 14 and 21 days after inoculation. A different lesion was used for each biopsy. The biopsies were quickly frozen and cut in a cryostat. The resulting tissue sections were stained for the lysosomal enzyme β -galactosidase, which reflects the state of MN activation. Tubercle bacilli in the lesions were recognized both by staining with carbolfuchsin and by radioautography. The ^{14}C -label was of great help in detecting the bacilli and showing progressive digestion of them.

MN in the lesions of primary infection were activated gradually, apparently due to the phagocytosis and digestion of the bacilli. In the 3 and 7 day lesions of the primary infection, more than 50% of the activated MN contained ^{14}C -labeled BCG. In the 10 and 14 day lesions of the primary infection, most of the bacilli were found in the necrotic center and within the activated MN that surrounded the center. Some of the bacilli, however, were found within nonactivated young MN that were located far from the center. In the 21 day lesions of the primary infection, new lesions were produced in the peripheral areas of the main lesion. In other words, some of bacilli had apparently escaped from the defense wall composed of activated MN, and produced new lesions.

In contrast with primary lesions, only 3% of the activated MN contained bacilli in the 3 and 7 day lesions of reinfection. This observation does not mean that the activated MN digested the bacilli so completely that the ^{14}C -label disappeared. It merely means that many MN were activated by delayed hypersensitivity (lymphokines) rather than by the phagocytosis and digestion

* From the First Department of Internal Medicine Kumamoto University Medical School 1-1-1, Honjo, Kumamoto 862 Japan.

of bacilli. In the lesions of reinfection, even in those 3 days after infection, many MN had accumulated around the area where the bacilli were present. These MN were rapidly activated, i. e. a defense wall composed of highly activated MN was soon found around the necrotic center that contained bacilli. The tubercle bacilli were therefore confined to this center and those that escaped into the defense wall were soon destroyed.

In summary, in the early stages of the primary lesions the delay in speed of MN activation probably allowed the spread of tubercle bacilli to adjacent tissues and even to distant organs. In contrast, in the early stages of lesions of reinfection the rapid MN accumulation and rapid MN activation built up a defense wall around the site of tubercle bacilli. The MN in this defense wall probably inhibited the multiplication of the bacilli thereby stopping the spread of bacilli to adjacent tissues and distant organs.

緒 言

あらかじめ結核菌で免疫された個体は、結核菌の再感染に対しては強い抵抗力を示す。この事実は多くの動物実験の成績から明らかにされている¹⁾。しかしながら、これら動物実験の成績の多くは、感染臓器から菌を培養するいわゆる臓器還元定量培養法によつてゐるために、病巣局所においてどのような感染防御機構が働いているかという、細胞レベルでの解析はほとんどなされてゐない。

われわれはラジオオートグラフィ法、ならびに酵素組織化学的方法を用いて、家兎 BCG 皮内病巣におけるマクロファージの動態とその病巣内における活性化の推移につき報告してきたが^{2)~4)}、今回はさらに ¹⁴C で標識した結核菌を用いることにより、病巣内マクロファージの活性化の推移と、結核菌の消長との相互関係をより詳細に観察する方法を考案した⁵⁾。

これら有力な手段を用いて、すでに結核菌で免疫された個体(再感染群)と、いまだ感染を受けたことのない個体(初感染群)に結核感染が起こつた場合の病変の推移を細胞レベルで経時的に観察し、病巣内マクロファージの動態と機能を中心とした局所免疫の立場から、初感染群と再感染群における結核感染発症防御機構上の差異を明らかにせんと試みた。

実験材料ならびに方法

動物: 実験動物にはニュージーランド白色家兎を使用した。これを初感染群と再感染群の2群に分け、各群6羽ずつとした。なお性別、体重が均等になるようにした。再感染群には実験開始3週前に ¹⁴C で標識されていない BCG 生菌 (10⁸ v. u. 皮内注射) であらかじめ感作しておいた。

使用菌株: ジョーンズホプキンス大学の Dr. Tepper より分与を受けた ¹⁴C 標識 BCG を使用した⁶⁾。

皮内病巣作成、ならびに病巣生検: ¹⁴C 標識 BCG 0.50×10⁸ v. u. (O.D.=0.360) をおのおのの家兎の背部に 0.1 ml ずつ、8カ所に注射し、皮内 BCG 病変を作製した。注射後3日目、7日目、10日目、14日目、21日目の BCG 病巣を各1コずつ生検し、病理標本を作製した。なお生検にあつては病巣の中央部に割を入れ、病巣の中心部が必ず標本に入るようにすると共に、組織の凍結が十分なされるようにした。

病理標本作製: 標本作製は従来の方法に従つた⁷⁾。すなわち生検後直ちに、液体窒素で冷却したアイソペンタンの中に生検材料を入れ、瞬間的に凍結し、クリオスタットにて 8 μ の凍結切片を作製した。次いで 1.25% グルタルアルデヒドで固定したのち、病巣内マクロファージのライソゾーム内にある酸性水解酵素 β-galactosidase (以下 β-gal. と略す) の染色を行つた。

次にラジオオートグラフィ法により BCG に標識した ¹⁴C をグレインとして標本上に現象した。その後カルボールフクシン法にて抗酸菌染色を行つた。すなわち結核菌をラジオオートグラフィ法と、抗酸菌染色法により二重に標識した。

最後にヘマトキシリン染色を行い、カバーガラスをかけ永久標本を作製した。

観 察 方 法

1. 観察した病巣部位: マクロファージは活性化されると酸性水加酵素 β-gal. 陽性となり緑黄色に染色される。このようにして識別される活性化マクロファージの存在する病巣のうち、下記の方法で同定した結核菌を強拡大でマクロファージの原形質内に認めた場合、結核菌を視野の中心におき、その視野に含まれる β-gal. 陽性のマクロファージをすべて算定した。

2. 結核菌の固定: カルボールフクシンによる抗酸菌染色法により形態学的に、あるいはラジオオートグラフィ法により ¹⁴C のグレインを認めた場合を結核菌陽性と

した。結核菌は活性化マクロファージ内である程度分解・消化されると抗酸性を失うが、その菌体成分が完全に消化されるまでは、たとえ結核菌がその抗酸性を失ってもマクロファージ内に¹⁴Cのグレインとして認められる。したがって抗酸菌を形態学的に認められなくとも菌陽性として識別できる。1コの結核菌あたりの¹⁴Cグレイン数は1~2コであつたので、マクロファージ内に3コ、あるいはそれ以上の¹⁴Cのグレインを認めた場合を菌陽性と判定した。

3. 活性化マクロファージの分類: 従来の方法に従い、 β -gal. 活性度により、+, Ⅱ, Ⅲ, Ⅳの4段階に分けた。+は幼若マクロファージを示し、Ⅳは高度に活性化した成熟マクロファージ(類上皮細胞)を意味する。なお血中から病巣に遊走してきた直後のマクロファージはほとんど β -gal. の活性は認められない³⁾。

マクロファージの固定には核の形態ならびに β -galactoside に対する染色性で判定したが、幼若マクロファージと中~大リンパ球を組織上で鑑別することは不可能であり、ある程度のリンパ球の混在は否定しえない。したがって、以下マクロファージをMN(mononuclear cell)と略すが、従来の研究から成熟リンパ球はもとより、幼若リンパ球でも、その β -gal. 活性度は低く、多くは+以下であり、強くともせいぜい+であることがわかっている²⁾。したがってMNの大多数はマクロファージを意味している。

実験成績

初感染群におけるBCG皮内病変(以下初感染巣と略す)と再感染群におけるBCG皮内病変(以下再感染巣と略す)について、①MNの病巣内集積とその活性化、②MN活性化の機序、③病巣内における結核菌の分布の推移と活性化MNとの関係、④活性化MNにおける菌の分解・消化能の質的ならびに量的差異を検討した。

I. 初感染巣, 再感染巣におけるMNの集積とその活性化の差異について

図1に示すごとく、再感染巣の大きさは、初感染巣に比し、急速に増大した。そしてこれら再感染巣内には、図2に示すごとく、感染初期(3日目の病巣)でもすでに強い β -gal. 活性化を示す多くのMNでしめられていた。このことは、再感染群では感染のごく初期から多くのMNが病巣局所に集積し、しかも集積したMNの多くは急速に短時日のうちに高度に活性化されることを示している(文献2, 3参照)。このことは後述するごとく結核感染後の進展防止に重要な機序と考えられた。

II. 初感染巣, 再感染巣におけるMN活性化の機序について

In vivo における両者の違いを検討するためには、初感染群が遅延型アレルギーを獲得する以前で、かつ壊死

Fig. 1. Size of Dermal BCG Lesions in Rabbits That Received Primary ¹⁴C-BCG Infection or ¹⁴C-BCG Reinfection

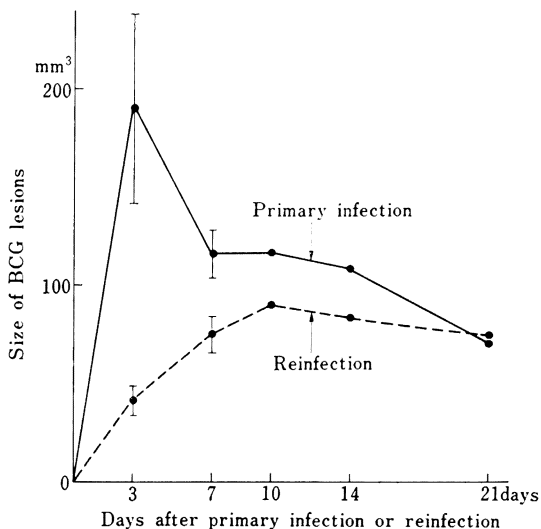
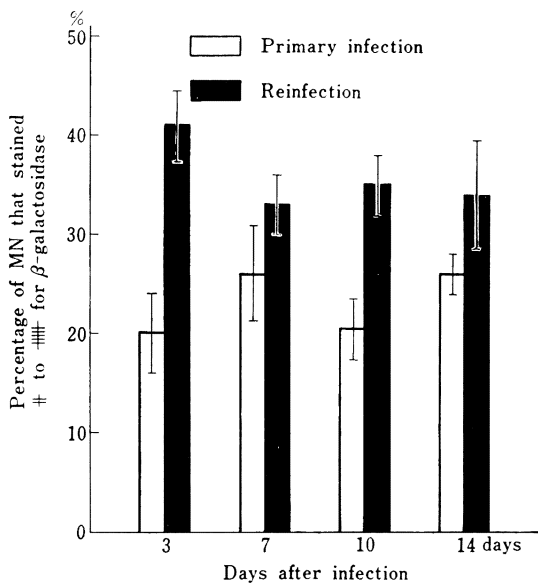


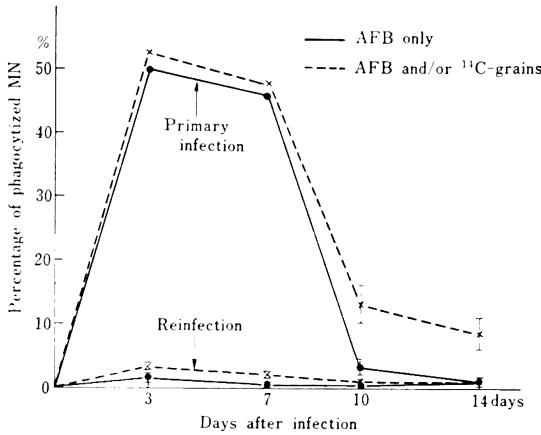
Fig. 2. Percentage of Activated Macrophages in the Primary ¹⁴C-BCG Lesions and Those of Reinfection



物質による影響が少ない時点で検討する必要があるので、以下第3日目の病変について述べる。

初感染巣では β -gal. Ⅱ~Ⅳ陽性MNの存在する場所には例外なく結核菌が認められ、かつ図3に示すごとく β -gal. Ⅱ~Ⅳ陽性MNの食菌率は $52.6 \pm 13.0\%$ であり、+陽性MNの $28.5 \pm 8.9\%$ に比し、きわめて高率であつた。また食菌しているMN1コあたりの菌数はⅡ~Ⅳ陽性MNでは 3.15 ± 0.38 , +陽性MNでは 2.46 ± 0.15 であり、Ⅱ~Ⅳ陽性MNはより多くの菌を

Fig. 3. Percentage of Phagocytized MN among the Highly Activated Macrophages († to ‡ Positive for β -Galactosidase) in the Primary ^{14}C -BCG Lesions and Those of Reinfection



食菌していた。 β -gal. に強陽性(‡)を示す、いわゆる類上皮細胞の出現は初感染群陽性 MN 全体のわずか $0.9 \pm 0.5\%$ に認めるにすぎなかつた。しかもこれらは壊死巣に直接接触した部分にのみ限局してみられ、菌は全く食食していなかつた。

このことは、初感染巣に遊走してきた MN は主として菌を食食してはじめて活性化されることを示している。したがって初感染巣内では MN は緩徐にしか活性化されないといえる。MN はまた壊死物質によつても高度に活性化されるが、この機序の作用する範囲はきわめて限局していると考えられた。

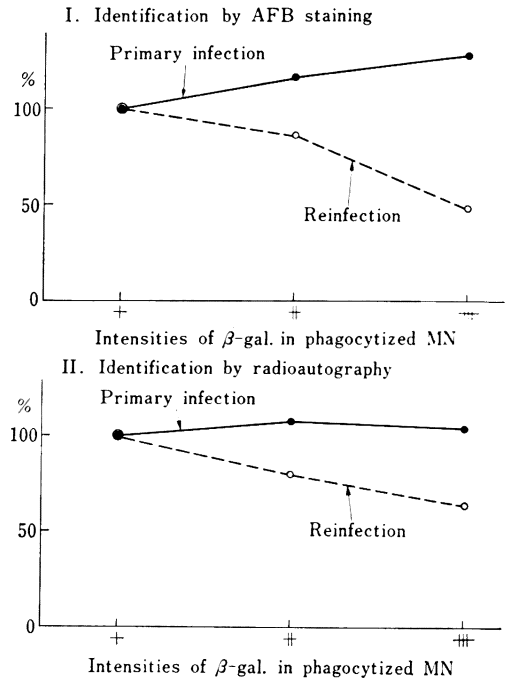
他方、再感染巣においては、図3に示すごとく β -gal. †~‡陽性 MN の食菌率は $4.0 \pm 1.2\%$ ときわめて低く、+陽性 MN の 3.4 ± 1.4 と大差はなかつた。また食菌している MN 1コあたりの菌数もそれぞれ 1.3 ± 0.2 , 2.3 ± 0.3 と初感染巣に比し低値であつた。 β -gal. ‡ MN は壊死巣を取り囲んで2重、3重に認められ、 β -gal. 陽性 MN の $2.7 \pm 1.1\%$ の多くに認められたが、結核菌は全く食食していなかつた。

このことは後述するように、高度に活性化された多数の MN により菌が食食され、完全に消化されてしまつたのではなく、再感染巣に遊走してきた MN は、初感染巣の MN と異なり、食菌・消化のプロセスを経ることなく、迅速かつ高度に活性化されることを示していた。この活性化に関与する因子は明らかに遅延型アレルギー反応と関係があると考えられた。

III. 病巣内における ^{14}C 標識結核菌分布の推移と活性化 MN との関係

初感染群の3日目と7日目の病巣においては、結核菌は β -gal. 陽性 MN の存在する、いわゆる活性化病巣内にはほぼ均等に分布していた(写真1)。図3、図4に示

Fig. 4. Comparison of Average Numbers of ^{14}C -BCG in Phagocytized MN That Stained +, †, and ‡ for β -Galactosidase (3 day lesions of primary infection and those of reinfection)



すごとく、 β -gal. †~‡陽性 MN の食菌率、ならびに食菌した MN 1コあたりの菌数は、3日目の病巣と7日目の病巣との間に全く有意差は認められなかつた。ただ7日目の病巣は3日目のそれに比し、病巣の範囲が大きく、壊死巣が明らかになつていた。

最も興味ある所見は10日目、14日目の病巣においてみられた。すなわちこれらの病巣では、再感染群3日目の病巣と同じく、明らかな壊死巣が認められ、その周辺は不完全ながら高度に活性化された MN の層による防御壁が形成された。これら防御壁内には後述するごとく、いぜんとしてかなりの結核菌が認められた(図3)、最も重要な所見は、写真2に示すごとく、これら MN の防御壁からあたかも逃れるように、防御壁の外側に結核菌が散在していたことであつた(以下これを escape 現象と呼ぶ)。これらの菌は活性化されていない MN の中に存在し、その菌数は食食した MN 1コあたり通常1~2コであつた。これらの菌は幼若化 MN 中でさらに増殖し、21日目の病巣では娘病巣を形成していた(写真3)。したがってこの escape 現象は初感染巣における結核の進展を考える時重要な所見と考えられた。

他方、再感染巣では、3日目、7日目にすでに多数の MN が集積し、菌の存在する中心部はすでに壊死に陥つ

ていた。そして壊死巣の周辺は高度に活性化された MN の厚い層でドーナツ状におおわれはじめ、10日目、14日目と時間が経つにつれこの防御壁は完全なものとなった。特徴的なことは、結核菌は主として壊死巣の中に存在し、ごく少数の菌のみが壊死巣に接した活性化 MN のなかに認められたことである(写真4)。初感染巣の10日目、14日目にみられた escape 現象は再感染巣では全くみられず(写真5, 6)、菌は高度に活性化された MN の厚い防御壁内にとじこめられていた(以下これを shut out) 現象と呼ぶ)。この shut out 現象により、結核菌は隣接する健常組織への進展を防げられるものと考えられることから、shut out 現象は免疫された個体における感染発症防止機構の主役をなすものと考えられた。

IV. 活性化 MN による食菌とその菌分解・消化能について

活性化された MN のライソゾーム内に認められる酸性水解酵素 β -gal. の活性化度は菌の分解・消化とどのような関係にあるか、結核菌が病巣内において分解・消化されはじめるのは何日目か、それに関与する因子は何か、これらの問題は重要なことであるが、別の主題と考えるので、他の2~3の実験成績と共に報告する(文献5, および考案参照)ので、ここでは初感染巣と再感染巣との差異についてのみ述べる。

初感染巣、再感染巣における活性化 MN の食菌率は図3に示した。初感染巣内の健常肉芽内に存在する結核菌は10日目より減少しはじめ、21日目には娘病巣を除くと、ほとんど認めることが困難となる。他方、再感染巣内の健常肉芽では3日目よりすでに少数の菌しか存在せず、10日目、14日目にはほとんど菌を認めがなくなった。

このように食食された菌の活性化 MN による分解・消化は、初感染巣では10日目より認め、14日目にはさらに顕著となった。他方、再感染巣では7日目よりすでに認められた。この差は再感染巣では健常肉芽中に多数の活性化 MN が存在するのに、結核菌は少数しか存在しないためと考えられた。

すなわち病巣内における結核菌の分解・消化にはその局所に集積してきた MN の数とその活性化度が関係していると考えられた。

考 案

結核感染防御機構を細胞性免疫の立場からみると、マクロファージ(以下 MN と略す)は感作リンパ球と共に重要な役割をなしている⁸⁾。すなわち MN は攻撃細胞として菌の食食とその分解・消化にあずかっているが、MN がこれらの機能を十分果たすためには、高度に活性化していることが必要である⁹⁾。したがって初感染群と再感染群における結核病巣局所内での MN 活

性化機序の差異を知ることは、両者の結核感染発症防御機構を考えると重要である。そして両者間には MN の集積と活性化のスピードに著しい差があることを報告したが^{2)~4)}、今回は病巣内結核菌との関連において検討した。

BCG で経皮的に免疫された家兎の流血中の MN は免疫されていない家兎の流血中の MN と同じくほとんど活性化されていないが¹⁰⁾、これらの MN がそれぞれの初期病巣内に遊走してきたあとでは、その活性化に差が生じる。すなわち初感染巣の初期病変に遊走した MN は主として病巣内に存在する結核菌を食食してはじめて活性化されるので、活性化の立ち上がりが遅れ、かつその活性化の程度も低いと考えられる。初感染巣の初期病変における壊死物質も MN を高度に活性化させるが、その範囲はきわめて限局しており、壊死物質に直接接する MN のみにしかその作用は及ばないようである。最近 Dannenberg らは BCG 皮内病巣における MN の Cathepsin D の活性度から、壊死物質は隣接する MN を主として活性化すると報告している¹¹⁾。

これに反し、再感染巣の初期病変に遊走してきた MN は結核菌を食食することなしに、直ちに、かつ高度に活性化される。それは単に壊死巣に隣接する MN にとどまらず、広範囲に及ぶ。したがってこの MN 活性化の機序は単に遅延型アレルギー反応により生じた壊死巣の大きさという量的問題のみではなく、質的問題と考えられる。このことはツベルクリン反応内において MN は免疫学的に特異的に活性化される事実からも推測される¹⁰⁾。

再感染巣において MN を活性化させる物質として、感作リンパ球が抗原と接触して産生するマクロファージ活性化因子(MAF)が考えられており¹²⁾、*in vitro*での実験が数多くなされている。これらの成績によれば MAF は MN の形態、機能ならびに種々の代謝機構に変化を与えるが^{13)~15)}、結核菌の分解・消化に密接な関係にあるライソゾーム内の酸性水加酵素の活性化をも高めたという確実な報告はなく、むしろ否定的な報告がある¹⁶⁾¹⁷⁾。われわれの *in vitro* の実験成績でも、これら MAF を作用させた MN は形態学的には活性化 MN と同様の変化を来すが、その β -gal. 活性はむしろ低下するといった *in vivo* とは逆の成績を得ている¹⁸⁾。これは単に *in vitro* の実験条件によるものか否か、今後の検討が必要であろう。

上述した初感染巣と再感染巣にみられる MN 活性化機序の著しい差異は、両者の結核進展ないしは進展防止と大きなつながりがある。すなわち初感染巣では食菌によりはじめて MN は活性化されるので、MN が食食した菌を分解・消化する能力をそなえる程度まで活性化される間に、MN に食食された結核菌は増殖を重ねる結

果、MNの方が結核菌より先に死滅し、したがって病変は更に健常組織へと拡大することになる。一方、再感染巣では多数のMNが、直ちに、かつ高度に活性化されるため、結核菌を分解・消化する能力のある活性化MN(後述)が病巣内に数多く準備されることになり、結核菌の進展を防ぐと考えられる。

結核感染発症防御機構を病巣局所の結核菌の分布と活性化MNとの相互関係からみると、もう一つの大きな差異は、初感染巣にみられるescape現象と、再感染巣にみられるshut out現象である。この知見は免疫されたモルモットに結核菌を感染させると結核菌は侵入部位に固着し、非免疫マウスに感染させると菌は他臓器へまん延するとのKrause¹⁹⁾の報告と同一現象である。

escape現象の起こる機序は次のごとく考えられる。初感染巣では、上述のごとくMN活性化の立ち上がりの遅さから、結核菌は増殖し病変は拡大する。そして感作リンパ球が分裂増殖してくると病巣中心部の抗原(結核菌)の多い所では弱い遅延型アレルギー反応が発現し、壊死を生じ、その周囲は再感染巣の初期にみられるような活性化MNによる防御壁により取り囲まれはじめる。しかしながら結核菌はすでに組織内に広く分布されているため、中心部から離れた周辺の活性化されていない幼若MNに貪食された結核菌は、壊死巣からも、活性化されたMNによる防御壁からも逃れて存在する。したがってこれらescapeした結核菌は更に増殖することになると考えられる。このような現象はおそらく十分量の感作リンパ球が生体内にでき、強い遅延型アレルギー反応によりすべての結核菌が活性化MNに包囲されるまで繰り返して起こるのであろう。その間に結核菌は血行性、リンパ行性、あるいは管内性に進展してゆくであろうし、原発巣にはより大きな壊死巣ができるであろう。このようなescapeを起こした菌を貪食している幼若MNの分布は粗であり、かつMN1コあたりの貪食された菌数は1~2コであること(すなわち周辺部の抗原の分布は粗であり、量も少ない)、およびこの現象は10日目、14日目の病巣に限ってみられること(すなわち感作リンパ球数がまだ十分量でない時期)、そして21日目の病巣に娘病変がみられること、などは上述の考えを支持する所見であろう。

他方、再感染巣にみられるshut out現象は感染の初期にみられるため、再感染群に侵入してきた結核菌はある程度増殖すると、すでに生体内に十分量存在する感作リンパ球により抗原として認識されるために結核菌が組織内に広がる前に抗原、すなわち結核菌の存在する部位は高度に活性化されたMNにより厚いドーナツ状の防御壁が形成される。したがってすべての結核菌は防御壁内にとじこめられるためescape現象は起こらず、結核菌の進展は防止されるものと思われる。

以上のごとく、初感染巣にみられるescape現象と、再感染巣にみられるshut out現象はもう一つの大きな感染発症防止機構上の違いと考えられる。

次に問題となるのはshut out現象により、活性化MNの防御壁内にとじこめられた菌のその後の運命はどのようになるかという点である。換言すれば、活性化MNに結核菌を殺菌(分解・消化)する能力がなければshut out現象がおきても意味のないこととなる。活性化MNによる結核菌の殺菌力を*in vivo*において細胞レベルで解析することは不可能なため、活性化MNによる結核菌の分解・消化能を検討することにより、殺菌力を推測した。このためには単に抗酸菌染色法のみでは不可能である。しかしながら¹⁴C標識結核菌を用いたラジオオートグラフィ法を併用すれば、菌が抗酸性を失う程度に分解・消化されても、¹⁴Cと結合した結核菌体成分がまだMN内に存在するかが、われわれはグレインとしてそれを確認できる。すなわち抗酸性菌陰性、¹⁴Cグレイン陽性のMNは菌を分解・消化している過程にあることを意味している。この方法により病巣内結核菌の分解・消化について検討した結果、MNの β -gal. 活性化の程度と菌の分解・消化能との間には相関関係があることがわかった⁹⁾。このことは必ずしもMNのライソゾーム内にある酸性加水酵素 β -gal. 自体が結核菌を分解・消化したことを意味しないが、少なくともこの β -gal. 活性度によるMNの分類は菌の分解・消化能の強弱をあらわしているといえる。換言すれば、MNの β -gal. 活性度をみることにより、そのMNのbacteriocidal activityを知ることができる。このような知見のもとに、初感染巣ならびに再感染巣における活性化MNの菌分解・消化の時期をみると、初感染巣の10日目に比し、再感染巣では7日目にすでにみられた。したがって再感染巣は初感染巣よりも局所免疫の強さがはるかに大であることが、菌の分解・消化の面からみても明らかである。

以上、初感染群、再感染群における結核感染発症防止機構上の差異を病巣内MNの動態と機能面から述べてきたが、これらすべての現象は遅延型アレルギー反応の有無の差といつても過言ではない。しかしながら、ある種の実験系では遅延型アレルギー反応の有無と個体の感染防御能とは必ずしも一致しないことが知られており²⁰⁾、そのためMacknessは免疫担当リンパ球の有無を示標とすべきだと述べている⁹⁾。したがって遅延型アレルギー反応を示標とするより、免疫担当リンパ球の有無、あるいはその数量を示標とする方がより正確とも考えられるが、少なくともわれわれの実験系では両者は平行するものと考えられる²²⁾。

最後に、人の肺結核の進展、あるいはその防止機構を考えると、上述の機序がそのまま働いているとは断定

しえないが、少なくとも病巣局所で起こっている局所免疫の本態は同一のものと考えられる。臨床的に遅延型アレルギー反応の存在は空洞形成の要因²³⁾として負の因子とも考えられているが、人の肺結核は1~2コの結核菌の侵入により始まるので²⁴⁾、抗原量も少なく、抗原の分布域もせまいため、壊死病変はきわめて少なく、したがって臨床的には空洞形成としてはとらえられないであろう。よほどの濃厚感染が強毒菌でない限り遅延型アレルギー反応に基づく shut out 現象は有効に働くものと考えられる。このことが外来性重感染発症の少ない1つの理由と思われる。また初感染後の悪化(二次肺結核)に及ぼす因子としては、ステロイド剤投与時あるいは糖尿病合併時などにみられるように、shut out 現象に関与する免疫担当リンパ球および MN の質的・量的変化が主体をなすものと考えられる。

結 論

初感染家兎ならびに再感染家兎の背部に¹⁴C標識 BCG による皮内病変を作り、経時的に生検し、病理標本を作成した。そして病巣内における活性化マクロファージ(MN)と結核菌との相互関係を、酵素組織化学的方法とラジオオートグラフィ法とを用いて検討した。

1. 再感染群では感染初期の3日目の病巣においてすでに多くの MN が病巣に集積しており、それらの多くは高度に活性化されていたのに比し、初感染巣では MN の集積も少なく、かつそれらの MN の活性化の程度も低かった。

2. この両者における MN 活性化の機序の差異をみると、初感染巣に遊出してきた MN は主として食菌~菌消化のプロセスを経てはじめて緩徐に活性化されたのに比し、再感染巣に遊出した MN は食菌~菌消化のプロセスとは無関係に急速かつ高度に活性化されていた。

3. 病巣内におけるこれら活性化 MN と結核菌との相互関係をみると、再感染巣ではすでに3日目の病巣において、結核菌の存在する部位の周辺には高度に活性化された多数の MN が取り囲んでいた。すなわち結核菌は活性化 MN より成る防御壁内に完全にとじこめられていた(shut out 現象)。他方、初感染群の10日目、14日目の病巣では、再感染群3日目の病巣と同じく、高度に活性化された多数の MN からなる防御壁の形成が認められた。しかしながら、再感染巣とは異なり、周辺の幼若 MN 内にも結核菌が存在していた。すなわちすべての結核菌が活性化 MN の防御壁内に完全にとじこめられておらず、一部の菌は活性化 MN の防御壁から逃れて、その外側に存在していた(escape 現象)。そして21日目の病巣では娘病変を形成していた。

4. 活性化 MN による結核菌の分解・消化は初感染巣では10日目よりみられたのに比し、再感染巣では7

日目にすでにみられた。

以上の所見は初感染巣における結核の進展、ならびに再感染巣における進展防止機構を考える場合の免疫病理学的裏付けとなるものと考えられた。

本論文の要旨は第49回日本結核病学会において報告した。また一部は第50回日本結核病学会において報告する予定である。

稿を終るにあたり、ジョーンズホプキンス大学教授 Arthur M. Dannenberg, Jr. の有益なご助言に深謝します。

文 献

- 1) Mackaness, G. B.: Amer. Rev. Resp. Dis., 97: 337, 1968.
- 2) Ando, M., Dannenberg, A. M., Jr. and Shima, K.: J. Immunol., 109: 8, 1972.
- 3) Dannenberg, A. M., Jr., Ando, M. and Shima, K.: J. Immunol., 109: 1109, 1972.
- 4) Ando, M. and Dannenberg, A. M., Jr.: Lab. Invest., 27: 466, 1972.
- 5) Ando, M. and Dannenberg, A. M., Jr.: In Preparation.
- 6) Tepper, B. S.: J. Bacteriol., 95: 1713, 1968.
- 7) Shima, K., Dannenberg, A. M., Jr. and Ando, M. et al.: Amer. J. Path., 67: 159, 1972.
- 8) Mackaness, G. B.: In Progress in Immunology. Academic Press, New York, N. Y., p. 413, 1971.
- 9) Dannenberg, A. M., Jr.: Bact. Rev., 32: 85, 1968.
- 10) Ando, M.: J. Reticuloendoth. Soc., 14: 132, 1973.
- 11) Rojas-Espinosa, O., Dannenberg, A. M., Jr. and Sternberger, L. A. et al.: Amer. J. Path., 74: 1, 1974.
- 12) David, J. R.: Federation Proc., 30: 1730, 1971.
- 13) Mooney, J. J. and Waksman, B. H.: J. Immunol., 105: 1138, 1970.
- 14) Nathan, C. F., Remold, H. G. and David, J. R.: J. Exp. Med., 137: 275, 1973.
- 15) Schmidt, M. E., Douglas, S. D. and Rubin, A. D.: Cell. Immunol., 9: 45, 1973.
- 16) Remold, H. G. and Mednis, A.: Federation Proc., 31: 753, 1972.
- 17) Nath, I., Poulter, L. W. and Turk, J. L.: Clin. exp. Immunol., 13: 455, 1973.
- 18) 安藤 他: 第50回日本結核病学会総会記事。
- 19) Krause, A. K.: Amer. Rev. Tuberc., 14: 211, 1926.
- 20) Anacker, R. L., Ribi, E. and Tarmina, D. F. et al.: J. Bacteriol., 100: 51, 1969.
- 21) Collins, F. and Mackaness, G. B.: Cell. Immunol., 1: 253, 1973.
- 22) Dannenberg, A. M., Jr., Ando, M. and Rojas-Espinosa, O. et al.: In Activation of macrophages. Excerpta Medica, Inc. p. 223, 1974.
- 23) Yamamura, Y.: Advan. Tuberc. Res. 9: 13, 1958.
- 24) Dannenberg, A. M., Jr.: Personal comments.

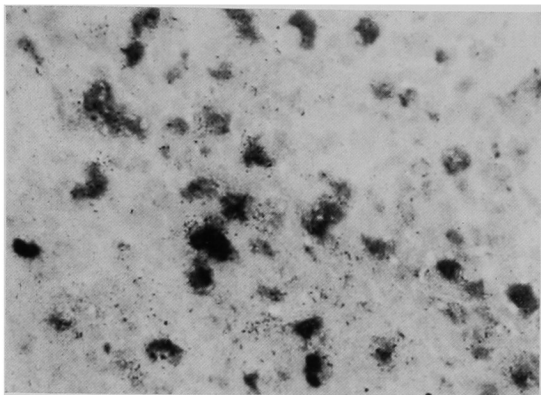


Photo. 1. A 3-day dermal ^{14}C -BCG lesion of primary infection. Grains of ^{14}C which label BCG (black spots) can be seen in the cytoplasm of both nonactivated macrophages and activated macrophages. Many of activated macrophages that stained 2+ and 3+ for β -galactosidase contain the grains. (^{14}C , 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactosidase, and hematoxylin; $\times 640$).

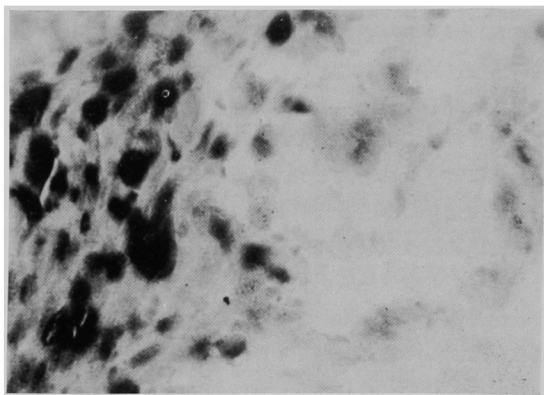


Photo. 2. A 14-day dermal ^{14}C -BCG lesion of primary infection. Highly activated macrophages contain no grains of ^{14}C . Some of nonactivated macrophages with weak or absent β -galactosidase activity, however, contain the grains. These bacilli seem to be escaped from the defense wall which composed of activated macrophages. (^{14}C , 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactosidase, and hematoxylin; $\times 640$).

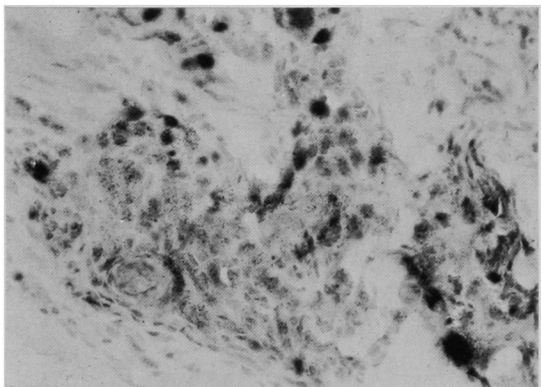


Photo. 3. A 21-day dermal ^{14}C -BCG lesion of primary infection. Many grains of ^{14}C are seen in the nonactivated macrophages. It suggests that the escaped BCG produce new lesions (^{14}C , 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactosidase, and hematoxylin; $\times 500$).

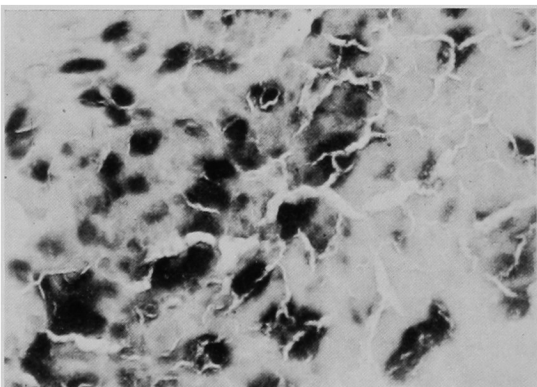


Photo. 4. A 3-day dermal ^{14}C -BCG lesion of reinfection. Many of macrophages accumulated in the dermal BCG lesion of reinfection are activated even in the 3 day after reinfection, and none of them contain the grains. Few of nonactivated macrophages contain the grains. (^{14}C , 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactosidase; $\times 640$).

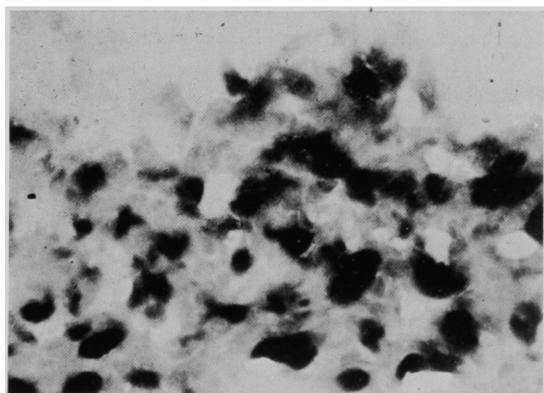


Photo. 5. A 14-day dermal ^{14}C -BCG lesion of reinfection. Highly activated macrophages (epithelioid cells) contain no grains. (^{14}C , 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactosidase; $\times 640$).

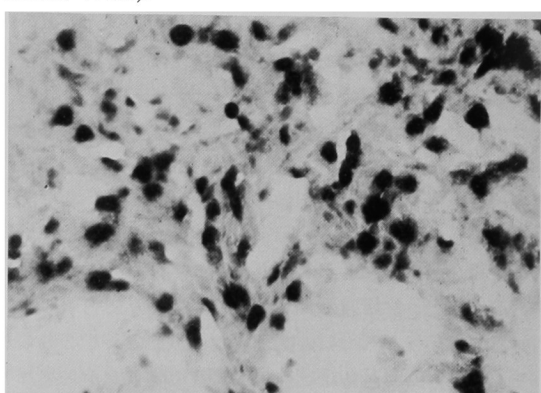


Photo. 6. A 21-day dermal BCG lesion of reinfection. No grains are found in the macrophages located in the peripheral areas of defense wall. (^{14}C , 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactosidase, and hematoxylin; $\times 500$).