

生體外ニ於ケル白血球ノ細菌貪喰 機能ニ關スル研究

其 11. 破傷風菌ニ對スル哺乳類各種動物
ノ白血球ノ貪喰能ニ就テ

金澤醫科大學病理學教室(杉山教授指導)

松 田 正

(昭和11年9月13日受附)

目 次

緒 言	第4節 海 獺
第1章 實驗方法	第5節 白 鼠
第2章 實驗成績	第6節 廿 日 鼠
第1節 載物硝子面ニ於ケル菌分布狀 態ノ觀察	第7節 實驗成績ノ總括及ビ考按
第2節 人 間	結 論
第3節 家 兔	文 獻

緒 言

杉山教授ガ先年白血球ノ機能及ビ形態ノ合法的生體檢索法ヲ創案サレテヨリ質的方面ノ研究ノミナラス、數量的方面ノ研究ヘト追及サレツ、アリ。

以上ノ新術式ニ從ツテ、細菌感染ニ對スル動物血液細胞ノ貪喰作用ニ及ボス數量的變化ヲ系統的ニ檢索スルハ生物學上意義深キモノニシテ且又吾人ノ知ラント欲スル所ナリ。

今回ハ體外ニ取出サレタル哺乳類各種動物ノ中性嗜好性白血球乃至假性エオジン嗜好性白血球ノ純培養セル破傷風菌ニ對スル貪喰能ニ就キ數量的關係ヲ檢索シタルヲ以テ以下報告スル所アラントス。

第1章 實 驗 方 法

實驗方法及ビ實驗材料ハ前回第1報告ニ記載セルモノニ準據シテルヲ以テ煩雜ヲ避クルタメ之ヲ簡略ス。

1. 破傷風菌染色法 該菌ハ當大學細菌學教室ヨリ分讓ヲ受ケン Zeissler (1930) Stamm No.59 ナリ。肝臟、肝臟ブイオン(葡萄糖1.0%) 10cc 宛入レタル試驗管ヲ10本豫メ用意シ8時間毎ニ培養セル(37°C) 菌ヲ5cc宛新シキ該試驗管中ニ入レ順次10回培養シタルモノヲ200cc、肝臟ブイオン(葡萄糖1.0%)中ニ6時間純培養セル菌ヲ2000回轉遠心器ニシテ沈澱セシムル事40分間、沈降セル菌ヲ充分蒸溜水ニテ洗滌シ、再ビ2000回轉ニヨリ30分間沈降セシム。斯ル洗滌操作ヲ2回反覆シタル後、菌ヲ2%ノ「カルボール水ニ

菌浮游液ヲ作り20ccトシ、之ニ Gram 氏染色ニ使用スル「カルボール、ゲンチアナ紫液 10cc」ヲ徐々ニ注入シ「ピペット」ニテ數100回反覆振盪混和シタル後、沃度、沃度加里、蒸溜水(1:2:5)ノ溶液ヲ 10cc 徐々ニ滴下混和シ 5 時間 Gram 氏染色ヲ施ス。

該菌液ヲ 500 回轉ニテ 5 分間遠心沈降セシメテ、中間層ヲ 30cc 取り、之ヲ「アラビヤゴム」ヲ 0.3%ノ割合ニ溶解セシメテ使用ニ供ス。

2. 菌液標本製作法 充分清淨ニセル載物硝子ニ菌液ヲ注ギ垂直ニ立テ、乾燥セシメタル後數回「アルコール」ニテ充分脱色シ水洗後乾燥セシメテ使用ニ供ス。

3. 血液標本製作法 實驗動物ノ採血部位ハ人間ニテハ耳朶、家兎及ビ海獺ニテハ耳靜脈、白鼠及ビ廿日鼠ニテハ尾靜脈ナリ。而シテ覆蓋硝子ヲ菌膜中央部ニ伏セ、血液ノ兩硝子面間ニ擴散スルヤ否ヤ直ニ周圍ヲ「ワゼリン」ニテ封鎖ス。

4. 検査方法 製作サレシ標本ハ 37°Cノ孵卵器中ニ 70 分間作用セシメタル後室温(20°C)ノ下ニ於テ油浸裝置顯微鏡ニテ鏡檢ス。

第 2 章 實 驗 成 績

第 1 節 載物硝子面ニ於ケル菌分布状態ノ觀察

當實驗ハ菌液ガ載物硝子面ニ塗布セラレタル場合可及的ニ菌ガ個々ニ且ツ平等ニ分布セラル、ヲ理想トス。故ニ本實驗ニ入ルニ先テ硝子面上ニ於ケル菌ノ分布状態ヲ觀察シ置クノ必要アリ。即チ第 1 報ニ報告シタル如ク菌塗抹硝子面ノ裏面ヲ金剛石ニ依リ、縱横各々 4 等分シテ結局 4 × 4 = 16 個ノ區劃トナシ、左端ヨリ縱ニ順次 A, B, C, … P 區劃トナセリ。而シテ顯微鏡筒ニハ網眼マイクロメータ」ヲ入レ油浸裝置ニテ各區劃内ニ於ケル菌數ヲ計算セリ。

今若シ標本ガ貪喰試験ノタメ理想的ニシテ凡テノ菌集簇ガ個々ノ菌ヨリナル時ハ集簇數ト菌總數トハ同數ナルベク、又菌集簇ガ多數ノ菌數ヨリナルニツレテ前者ハ後者ニ比シテ少數トナリ 1 個ノ菌集簇ニ對スル平均菌數ハ増加スルニ至ル。

余ハ 2 枚ノ菌塗抹標本ニ就テ觀察セルガ第 1 表—第 4 表ニ示スガ如キ成績ヲ得タリ。

第 1 表及ビ第 3 表ヲ見ルニ總數ノ $M \pm PEm$ ハ 25.813 ± 0.078 及ビ 25.763 ± 0.063 ニシテ最大値及ビ最小値ノ部位ノ概シテ下列及ビ上列ニシテ各標本ニ於ケル菌密度ハ總數ノソレニ近似値ヲ有スル部位ハ各標本ノ中央部ニアルヲ示セリ。

第 2 表及ビ第 4 表ヲ見ルニ總數ノ $M \pm PEm$ ハ 1.092 ± 0.002 及ビ 1.091 ± 0.002 ニシテ最小値及ビ最大値ノ部位ハ概シテ上列及ビ下列ナリ。即チ各菌集簇ノ存スル菌數ハ塗抹標本ニテ總數ノソレニ近似値ヲ有スル部位ハ各標本ノ中央部ニアルヲ示セリ。以上ノ事實ニ鑑ミルニ各標本中央部ニ於テハ菌密度ニシテ菌集簇ガ個々ノ菌ヨリナルベク理想的條件ニ近キモノナリ。本實驗ニ當リテモ其ノ中央部ヲ使用ニ供シタリ。

第 1 表 度 數 分 布 (破傷風菌第 1 標本)

各網眼ミ クロメー タ」ニ於 ケル細菌 數	區 劃 部 位																總 數
	A ₁	B ₁	C ₁	D ₁	E ₁	F ₁	G ₁	H ₁	I ₁	J ₁	K ₁	L ₁	M ₁	N ₁	O ₁	P ₁	
13-15									1								1
16-18		1	1	1	2		2		2	2	1				1		13
19-21	3		1	2	6	4	3	1	7	2	2	2	4	2	1		40
22-24	12	11	5	1	11	8	4	13	9	6	5	11	9	9	3	6	123
25-27	4	5	13	17	6	7	10	10	3	7	12	8	7	11	15	15	150
28-30	10	10	8	6	3	6	8	3	7	7	6	5	8	8	8	6	109
31-33		2	2	2	1	4	3	3		5	4	3	2		2	3	36
34-36	1	1		1	1					1		1					6
37-39						1											1
43-45									1								1
總 數	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	480
M±PE _m	24.93 ±0.27	25.87 ±0.31	26.60 ±0.26	26.87 ±0.28	24.67 ±0.33	26.07 ±0.25	25.93 ±0.33	25.33 ±0.25	24.67 ±0.45	26.27 ±0.37	26.20 ±0.30	25.93 ±0.30	25.53 ±0.28	24.80 ±0.22	26.37 ±0.25	26.77 ±0.21	25.813 ±0.78
σ±PE _σ	3.29 ±0.19	3.74 ±0.21	3.19 ±0.28	3.47 ±0.20	4.04 ±0.23	4.31 ±0.29	4.02 ±0.23	3.04 ±0.17	5.49 ±0.32	4.50 ±0.26	3.63 ±0.21	3.67 ±0.21	3.48 ±0.20	2.69 ±0.16	3.07 ±0.17	2.59 ±0.15	3.804 ±0.055

第 2 表 度 數 分 布 (破傷風菌第 1 標本)

各網眼ミ クロメー タ」ニ於 ケル細菌 數	區 劃 部 位																總 數
	A ₁	B ₁	C ₁	D ₁	E ₁	F ₁	G ₁	H ₁	I ₁	J ₂	K ₁	L ₁	M ₁	N ₁	O ₁	P ₁	
1	628	656	669	684	615	689	656	651	615	662	659	650	647	632	665	686	10464
2	48	42	45	49	43	36	46	44	43	48	50	46	46	44	51	48	729
3	8	12	13	8	13	7	10	9	13	10	9	12	9	8	8	7	156
總 數	684	710	727	741	671	732	712	704	671	720	718	708	702	684	724	741	11349
M±PE _m	1.09 ±0.01	1.09 ±0.01	1.10 ±0.01	1.09 ±0.01	1.10 ±0.01	1.07 ±0.01	1.09 ±0.01	1.09 ±0.01	1.10 ±0.01	1.09 ±0.01	1.09 ±0.01	1.09 ±0.01	1.09 ±0.01	1.09 ±0.01	1.09 ±0.01	1.08 ±0.01	1.092 ±0.002
σ±PE _σ	0.33 ±0.01	0.34 ±0.01	0.35 ±0.01	0.32 ±0.01	0.36 ±0.01	0.29 ±0.01	0.33 ±0.01	0.33 ±0.01	0.37 ±0.01	0.34 ±0.01	0.33 ±0.01	0.35 ±0.01	0.33 ±0.01	0.32 ±0.01	0.33 ±0.01	0.31 ±0.01	0.333 ±0.01

第 3 表 度 數 分 布 (破傷風菌第 2 標本)

各網眼ミ クロメー タ」ニ於 ケル細菌 數	區 劃 部 位															總 數	
	A ₂	B ₂	C ₂	D ₂	E ₂	F ₂	G ₂	H ₂	I ₂	J ₂	K ₂	L ₂	M ₂	N ₂	O ₂		P ₁
13-15						1											1
16-18			1				1						1	1	1		5
19-21	7	3	1		1			5	3	1	1		2	1	1	2	28
22-24	11	13	9	7	10	8	5	6	5	7	7	4	8	9	4	4	117
25-27	6	7	11	13	14	14	16	6	13	15	13	21	12	13	16	16	206
28-30	5	5	7	8	5	5	6	9	9	5	8	5	6	5	7	6	101
31-33	1	2		2		2	2	1		2	1		1	1	1	2	18
34-36			1					1									2
37-38								2									2
總 數	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	480
M±PE _m	24.27 ±0.27	25.10 ±0.26	25.40 ±0.27	26.63 ±0.21	26.20 ±0.19	25.77 ±0.27	26.23 ±0.24	26.50 ±0.30	25.63 ±0.23	26.13 ±0.22	26.03 ±0.21	26.00 ±0.13	25.27 ±0.25	25.80 ±0.24	25.83 ±0.23	26.10 ±0.23	25.763 ±0.63
σ±PE _σ	3.34 ±0.19	3.22 ±0.19	3.35 ±0.19	2.54 ±0.15	2.36 ±0.14	3.32 ±0.19	2.89 ±0.17	4.87 ±0.28	2.78 ±0.16	2.68 ±0.15	2.62 ±0.15	1.64 ±0.09	3.16 ±0.18	2.97 ±0.17	2.90 ±0.17	2.78 ±0.16	3.089 ±0.045

第 4 表 度 數 分 布 (破傷風菌第 2 標本)

各網眼ミ クロメー タ」ニ於 ケル細菌 數	區 劃 部 位															總 數	
	A ₂	B ₂	C ₂	D ₂	E ₂	F ₂	G ₂	H ₂	I ₂	J ₂	K ₂	L ₂	M ₂	N ₂	O ₂		P ₂
1	621	647	627	674	674	642	667	657	659	661	666	655	674	649	659	661	10446
2	46	44	54	46	44	52	45	54	43	48	41	52	46	49	40	44	745
3	5	6	9	11	8	9	10	10	8	9	11	7	11	9	12	8	143
總 數	672	697	690	731	726	703	722	721	710	718	718	714	731	707	711	713	11334
M±PE _m	1.08 ±0.01	1.80 ±0.01	1.11 ±0.01	1.09 ±0.01	1.08 ±0.01	1.10 ±0.01	1.09 ±0.01	1.10 ±0.01	1.08 ±0.01	1.09 ±0.01	1.09 ±0.01	1.09 ±0.01	1.04 ±0.01	1.09 ±0.01	1.09 ±0.01	1.10 ±0.01	1.091 ±0.002
σ±PE _σ	0.30 ±0.01	0.30 ±0.0	0.35 ±0.01	0.34 ±0.01	0.31 ±0.01	0.34 ±0.01	0.33 ±0.01	0.35 ±0.01	0.31 ±0.01	0.33 ±0.01	0.33 ±0.01	0.32 ±0.01	0.34 ±0.01	0.33 ±0.01	0.34 ±0.01	0.32 ±0.01	0.329 ±0.001

【 129 】

生體外ニ於ケル白血球ノ細菌負荷機能ニ關スル研究

第2節 健康人ニ於ケル中性嗜好性白血球ノ貪喰試験

第5表 (人 間)

検査 月日	實 驗 回 數	70分後ニ於ケル各個白血球ノ貪喰菌數														細菌 總數	細胞 總數	平 均 貪喰度		
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13				14	15
13/IV	No. 1	2	5	10	10	14	16	13	13	6	3	4	1	1	1	1		525	100	5.250
	No. 2	2		5	13	15	13	18	13	9	5	5					1	574	100	5.740
	No. 3	3	7	8	8	14	12	6	14	6	7	6		1		1	1	569	100	5.690
	總 數	7	12	23	31	43	41	37	40	21	15	15	1	2	1	2	2	1668	300	5.5600

第3節 健康家兎ニ於ケル假性エオジン嗜好性白血球ノ貪喰試験

第6表 (家 兎)

検査 月日	實 驗 回 數	70分後ニ於ケル各個白血球ノ貪喰菌數							細菌 總數	細胞 總數	平 均 貪喰度	
		0	1	2	3	4	5	6				7
13/IV	No. 1	0	25	29	23	10	3	3	1	232	100	2.320
	No. 2	7	29	25	22	9	5	2	1	225	100	2.250
	No. 3	8	29	27	20	8	4	3	1	220	100	2.200
	總 數	15	83	81	65	27	12	7	3	677	300	2.2567

第4節 健康海獺ニ於ケル假性エオジン嗜好性白血球ノ貪喰試験

第7表 (海 獺)

検査 月日	實 驗 回 數	70分後ニ於ケル各個白血球ノ貪喰菌數											細菌 總數	細胞 總數	平 均 貪喰度			
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10				11	12	13
15/IV	No. 1	8	15	13	16	19	11	7	5	2	2	1		1		353	100	3.530
	No. 2	9	17	15	14	19	17	5	4	3		1		1	1	342	100	3.420
	No. 3	7	18	12	16	22	13	4	3	2		2	1			335	100	3.350
	總 數	24	50	40	46	60	41	16	12	7	2	4	1	2	1	1030	300	3.4333

第5節 健康白鼠ニ於ケル假性エオジン嗜好性白血球ノ貪喰試験

第8表 (白 鼠)

検査 月日	實 驗 回 數	70分後ニ於ケル各個白血球ノ貪喰菌數										細菌 總數	細胞 平均	貪 喰 度總數		
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9				10	11
12/IV	No. 1	6	17	22	12	8	19	7	8	1	3		2	374	105	3.562
	No. 2	5	13	20	14	13	16	13	7	2		2		390	105	3.714
	No. 3	5	13	19	9	17	13	9	10	1	2	1	1	382	100	3.820
	總 數	16	43	61	35	38	48	29	25	4	5	3	3	1146	310	3.6967

第6節 健康廿日鼠ニ於ケル中性嗜好性白血球ノ貪喰試験

第9表 (廿日鼠)

検査 月日	實 驗 回 數	70分後ニ於ケル各個白血球ノ貪喰菌數								細菌 總數	細胞 總數	平 均 貪喰度
		0	1	2	3	4	5	6	7			
17/IV	No. 1	30	36	18	12	4	1	1		135	102	1.324
	No. 2	23	30	27	10	9	4	1	1	184	105	1.752
	No. 3	27	33	18	9	8	2	2	1	157	100	1.570
	總 數	80	99	63	31	21	7	4	1	1	476	307

第7節 實驗成績ノ總括及ビ考按

破傷風菌ハ地上廣ク分布セル細菌ニシテ北里氏 (1889) =依リテ純培養ヲ得タリ。既ニ Nicolaier (1884) ハ土壤中ニ破傷風ヲ起スベキ病原體ヲ發見以來耕作地、庭園、道路、泥土及ビ處女林ニ至ルマデ廣ク分布セラレ、膿中、齶齒、口腔、頭髮及ビ人體各所、塵埃、被服、動物殊ニ馬牛ノ腸内、人間ノ腸内ニ又 Katgut =含有サル、コト屢々ニシテ殊ニ最近 Piening =依リテ Katgut ガ各種ノ嫌氣性細菌ヲ含有スルタメニ外科の手術ニ際シテ細心嚴重ナル消毒ヲ要スルコトヲ警告セラレタリ。

本菌ニ依リ動物ハ自然感染ヲ受クルコトアリ。但シ其ノ感染ハ何レモ其ノ肢端ニ傷ヲ受ケ之ヨリ本菌ノ侵入セルガタメナリ。人間ノ破傷風ニ於テモ亦同ジク傷口ヨリ本菌ノ感染ヲ受クルタメナリ。如斯動物就中馬ノ自然感染ハ特ニ屢々見ル所ナリ。

以上本菌ハ自然界ニ擴ク分布セラレ吾人ノ生活ニ密接ノ關係ヲ有スル破傷風菌ハ Zeissler 及 Rassfeld =據レバ土壤(200例)ニ於テ27%、近クハ田島氏ニ依リテ凡テノ土壤ノ3分ノ1ニ於テ檢出サレ、Pizzin (1898) ハ100例ノ中5%、Tulloch (1919)ハ21例ノ糞便ヲ檢査シテ本菌ヲ證明シ、Teubroeck 及 Bauerモ5乃至48歳ノ支那人男子78例ニ就テ其ノ34.7%陽性成績ヲ得、佐々木氏ハ(1932)土壤(160例)ニテ37.5%ヲ檢出シタリ。

以上ノ如ク嫌氣性細菌ノ動物腸内ニ於テ見出サレ、吾人ハ蔬菜、果物、漬物ヲ介シテ日常嫌氣性細菌ヲ消化器系ニ攝取スル機會ヲ有スルモノニシテ茲ニ土壤ト動物間ニ於テ嫌氣性細菌ノ自然ノ大循環ヲ見ルハ興味アル現象ト云フベシ。

余ハ細菌學教室(當大學)ヨリ分讓ヲ受ケタル破傷風菌ニ就キ各種動物ノ中性(又ハ假性エオジン)嗜好性白血球ヲ主トシ、細菌貪喰ニ關シ數量的ニ觀察シ、其ノ比較研究ノ大要ヲ記述スル所アラントス。

各種動物貪喰開始時間ハ標本製作ノ直後ヨリ始マリ、攝氏37°Cノ孵卵器中ニテ約1時間後ニ於テ貪喰スベキ白血球ノ貪喰率最大ニ達セリ。(第3報)

其ノ余ノ得タル觀察時間70分後ニ於ケル總平均貪喰度ノ成績ヲ概括表示スレバ下記ノ如シ。

第 10 表 1 白血球ノ平均貪喰菌數

動物名 \ 驗例實	第 1 例	第 2 例	第 3 例	平 均
人 間	5.250	5.740	5.690	5.5600
家 兎	2.320	2.250	2.200	2.2567
海 獺	3.530	3.420	3.350	3.4333
白 鼠	3.562	3.714	3.820	3.6967
廿 日 鼠	1.324	1.752	1.570	1.5505

以上人間ニ於テ最大貪喰ヲ呈シ、白鼠、海獺、家兎、廿日鼠ノ順位ヲ示セリ。

結 論

余ハ哺乳類ニ屬スル各種正常動物(人間、家兎、海獺、白鼠、廿日鼠)ヨリ體外ニ取出セル血液白血球ノ Gram 氏染色ヲ施セル 破傷風菌ニ對スル貪喰性ヲ檢シテ次ノ如キ結論ヲ得タリ。

1. 各種動物白血球ノ破傷風菌ニ對スル貪喰能ハ先天的ニ差異アルモ同一種動物ニ於テハ略々其ノ貪喰度ヲ等シクセリ。

2. 人類白血球ノ貪喰能ハ最モ大ニシテ一細胞ニ於ケル平均貪喰菌數ハ 5.56個ニ達シ、次ニ白鼠、海獺、家兎、廿日鼠ノ順位ニアリテ、ソレ等ノ白血球ノ平均貪喰菌數ハ夫々 3.70; 3.43; 2.26; 1.55個ナリキ。

文 獻

- 1) Churchman : Gram Structure of Cocci. Journ. of Bact. 1929, 18, 413.
- 2) Haan : Die Phagocytose als Ausdruck des Lebens d. Lenkozyten. Pflüger's Archiv. Bd. 194, H. 4, 1922.
- 3) Teubroeck and Baner : The tetanusbacillus as an interstitial saprophyte in man. J. Exp. M. 1922, 36, 261.
- 4) Zeissler u. Rassfeld : Die Anaeroben Sporenflora der europäischen Kriegsschauplätze. 1917. Jena, 1928.
- 5) Zeissler : Die Gasoedeminfektion des Menschen. Handb. d. Path. Mikroorg. Bd. IV, Teil 2, 3, Aufl. S. 1096.
- 6) Zeissler : Diagnostik der Anaeroben Sporenbildner Z. bl. Bact. Orig. Bd. 89, S. 117, 1923.
- 7) Kitasato : Über den Tetanusbacillus. Z. Hyg. Bd. 7, S. 225, 1889.
- 8) 杉山繁輝, 生物測定學ニ就テ, 日新醫學. 第 4 號, 第 9 號.
- 9) 佐々木茂雄, 嫌氣性菌族ノ研究. 土壤中ニ於ケル嫌氣性細菌ニ就テ, 金大十全會雜誌, 第 37 卷, 第 12 號, 昭 7, 第 38 卷, 第 1 號, 昭 8.
- 10) 谷友次, 佐々木茂雄, 近世嫌氣性細菌學. 昭 9.
- 11) 谷友次, Bacteriologisches Taschenbuch.
- 12) 田島清, 破傷風菌ノ研究知見補遺, 其 1, 細菌學雜誌. 第 33 號, 178 頁, 昭 7.
- 13) 竹内松次郎, 近世細菌學及ビ免疫學, 後篇. 1933.