

結核アレルギーの組織学的研究

第 2 報

結核菌菌体成分による皮内反応の組織学的研究

第 2 編

結核菌体多糖類及び磷脂質を以つてする実験

金沢大学結核研究所細菌免疫部（主任：柿下正道教授）

上 田 稔

（受付：昭和31年3月1日）

緒 言

結核菌体多糖類分割による皮膚反応の組織学的研究については安平¹⁾及び平田²⁾等、磷脂質によるそれについては、Smithburn & Sabin³⁾、Roulet & Bloch⁴⁾、Takeda & Ogata⁵⁾及び天野・平田⁶⁾等の報告があるが、私は当教室に於ける結核アレルギーの病理組織学的研究の一

環として、さきに結核菌体蛋白による皮膚反応の組織学的研究を行つたので、今回は菌体多糖類及び磷脂質分割を結核菌感染家兎並びに健常家兎の皮内に注射した際に於ける皮膚組織反応を逐時的に検討したので茲に報告する次第である。

実験材料並びに実験方法

(1) 実験動物

体重3.0kg前後の家兎を二群に分ち、一群は無処置、一群には人型結核菌 H₃₇Rv 株の感染を行つた。感染方法は中川⁷⁾に準じて行つた。

(2) 使用抗原

i) 人型結核菌多糖類分割

人型結核菌青山 B 株から秋山⁸⁾の方法に従つて抽出した多糖類を滅菌生理的食塩水に 0.1mg/0.1ml の割に溶解して使用した。

ii) 人型結核菌磷脂質分割

人型結核菌青山 B 株から秋山⁸⁾の方法に従つて抽出した磷脂質をエーテルに溶解し、滅菌生理的食塩水に

て 0.25mg/0.1ml の割のエムルジョンとしたものを使用した。

(3) 標本作製術式

抗原は第 1 篇の方法に従い家兎背部皮内に注射したが、標本の採取は、抗原注射後 1, 3, 6, 12, 24, 48, 72時間, 5, 7, 14, 21 及び 28 日目迄逐時的に皮膚を切除し、Susa 並びにアルコール固定後、Haematoxylin-Eosin 重染色、Giemsa 染色及び van Gieson 染色を行い、他に特殊染色として Methylgreen-Pyronin 染色 (Unna-Pappenheim 氏法)、Metachromasia 反応 (Thionine 使用) 及び多糖類染色 (Lillie 法) を行つた。

実 験 成 績

A. 多糖類分割の皮内注射による成績

(1) 肉眼的所見

感染家兎に於ける発赤は、24時間目には明瞭

に認められたが48時間目にはやゝ褐色に変わり72時間目には全く消失した。健常家兎に於いても、24時間目にはのみ境界の不明瞭な軽度の発赤

が認められた。硬結は感染家兎並びに健常家兎とも全く認められなかつた。

(2) 組織学的所見

i) 健常家兎に於ける成績

1時間目には軽度の鬱血、淋巴腔の拡張及び彌蔓性に少数の単核細胞浸潤が認められるのみであつた。3時間目に至り血管網及び毛嚢周囲を中心に多核白血球が増加して浸潤細胞の主体となり、鬱血の他軽度の結合織線維の膨化及び浮腫も認められた。6時間目には多核白血球浸潤は減少の傾向を辿り始め、12時間目には僅かに散見されるのみとなつたが、之と平行して軽度に認められた血管系の反応も減退した。24時間目以後は主として血管周囲に少数の単核細胞浸潤が認められるのみとなり、48時間目以後は結合織の反応も殆んど認められなかつた。

ii) 結核菌感染家兎に於ける成績

1時間目より軽度の浮腫、結合織線維の膨化、小血管の充盈並びに血管周囲を中心に単核細胞及び極めて少数の多核白血球の浸潤が認められた。3時間目から6時間目に至ると多核白血球の浸潤は頂点を示し単核細胞を凌駕するが、血管周囲及び毛嚢周囲を除いては極めて弱く、一方結合織及び血管系の反応も6時間目には最高に達し、細静脈の拡張も認められた。12時間目には多核白血球浸潤は減少し、以後次第に単核細胞のみとなつたが、24時間目には結合織並びに血管系の反応も減退したが48時間目に至り結合織並びに血管系の反応は再び強さを増し、72時間目には血管周囲を中心に単核細胞の軽度の増加も見られ、その中には好ピロニン染色性の細胞も散見された。5日目には組織反応の主要経過は殆んど終了するが、7日目になつても尙鬱血のみは認められた。

iii) 小括

多糖類分割による組織反応は一般に弱く、早期には可成りの多核白血球浸潤が見られるが、後期の細胞反応は極めて軽度であり、結核菌感染家兎に於いて血管周囲に単核細胞の弱い浸潤像を見るに過ぎなかつた。結合織及び血管系の

反応は健常家兎では微弱であつたが、感染家兎では反応の早期及び48乃至72時間目に於いて可成り明瞭に認められた。

B. 磷脂質分割の皮内注射による成績

(1) 肉眼的所見

第2表は磷脂質分割の皮内注射による24時間目、48時間目及び72時間目の発赤径測定値である。

24時間目に於ける結核菌感染家兎の発赤は明瞭で、健常家兎の発赤は弱く境界も不明瞭であつたが、何れも強い硬結が見られた。48時間目では健常家兎並びに結核菌感染家兎とも硬結は一段と強く発赤の境界も明瞭となつたが、ツベルクリン反応の発赤と異なりやゝ淡色を帯び、72時間目には発赤の中心部は明らかに白色を呈して来た。次いで5日目に至り、帯白色の硬結部位に一致して結核菌感染家兎では直径4乃至5mm、健常家兎では3mm前後の膿瘍を形成し、自潰するものも認められた。

(2) 組織学的所見

i) 健常家兎に於ける成績

1時間目には網状層の血管周囲を中心に少数の多核白血球及び単核細胞の浸潤並びに小血管の充盈が認められたが、結合織の反応は極めて軽度であつた。3時間目に至り血管周囲の多核白血球浸潤は急激に増加し、網状層に於いては完全に単核細胞を圧倒し、又毛嚢付近には出血像も稀に認められた。6時間目には多核白血球の浸潤は益々顕著となり、血管周囲のみならず注射局所と思われる部分を中心に強い彌蔓性の浸潤が見られた。一方結合織及び血管系の反応も明瞭となり、軽度の結合織線維の膨化、浮腫、淋巴腔の拡張及び細静脈の鬱血が認められた。12時間目には多核白血球は既に退行変性の傾向を示し、又出血像は反応経過中最も強く、網状層の組織反応の強い部分に一致して限局性に認められた。24時間目には退行変性を起した多核白血球の浸潤は強く、注射局所に楕円形に集合して見られたが、又この部分の結合織の反応も強く空胞変性も認められた。一方注射局所の周

囲に於いても可成りの多核白血球の浸潤が見られたが、結合織の反応は極めて軽度であつた。48時間目には注射局所の反応は更に顕著となり中心部は壊死に陥るが、周辺部では結合織の反応は弱く浸潤細胞も軽度に過ぎないが、血管系の反応は比較的強く著明な血管の拡張及び鬱血等が認められた。

72時間目頃より表皮はやゝ肥厚し、中心部の壊死に陥つた部分は膿瘍を形成するが、その周辺部には大小の単核細胞の浸潤が認められた。5日目には中心部に於いても多核白血球に代り大小の単核細胞が浸潤細胞の主体をなし、周辺部には類上皮細胞化したものも散見された。又この頃より膿瘍の自潰像も認められ、更に7日目には自潰した膿瘍の壁に沿うて表皮の新生像が認められた。14日目には多核白血球浸潤は殆んど消失し強い単核細胞浸潤となるが、之と平行して類上皮細胞化したものも数を増し、更に21日目には類上皮細胞化した単核細胞に加えて少数の異物型巨細胞も認められた。又14日目頃迄持続した周辺部の血管系の反応は、21日目にはやゝ軽度となり、この頃より周辺部の結合織の反応も殆んど認められなかつた。

ii) 結核菌感染家兎に於ける成績

健常家兎に類似の反応経過をとつたが、結合織線維を始め血管系及び細胞浸潤等反応は健常家兎に比し全般的に高度であつた。

1時間目より血管周囲に単核細胞及び少数の多核白血球の浸潤並びに軽度の淋巴腔の拡張が認められ、3時間目に至れば血管周囲の多核白血球の浸潤は高度となるが、鬱血、淋巴腔の拡張の他、結合織線維の膨化及び浮腫も顕著となり、6時間目には結合織の一部に壊死像が観察された。12時間目には崩壊した多核白血球が注射局所に密集し、この部分の結合織線維の空胞

変性も強く且つ中心部は壊死に陥つていた。周辺部では主として多核白血球が血管周囲に限局性に出現したが、又一方では単核細胞の浸潤が比較的強い部分も認められた。24時間目にはこれ等の傾向は益々顕著となり、次いで膿瘍を形成するが、この頃より周辺部の鬱血は著るしく出血像も加わり、又所々に多核白血球及び単核細胞の強い浸潤も認められ、48時間目には単核細胞が優勢を示した。72時間目には周辺部に於ける血管網の鬱血及び拡張は最高度となり、結合織の反応は尙持続し、この頃より表皮の肥厚も認められるに至つた。

5日目には膿瘍の自潰像及び類上皮細胞化した単核細胞も認められ、7日目には表皮の肥厚は著明となつた。膿瘍周囲の細胞浸潤は単核細胞を主体とし、尙少数の多核白血球が之に加わつていた。以後健常家兎と類似の反応経過をとるが、28日目に至るも高度の単核細胞浸潤の他、表皮の肥厚、結合織線維の膨化及び鬱血等が認められた。

iii) 小括

磷脂質の皮内注射による組織反応は強く、3時間目頃より高度な多核白血球反応が惹起される。次いで48時間乃至72時間目には膿瘍を形成し、5日目に至り自潰するものも認められるが、組織反応は注射局所に限局する傾向が強く周辺部の反応は血管系を除き一般に極めて軽度であつた。又5日乃至7日目頃より単核細胞の類上皮細胞化、2乃至3週間目には稀に異物型巨細胞も認められた。

以上の如く結核菌感染家兎では健常家兎に比し反応領域及び反応程度とも高度であつたが両者間の組織反応には本質的な差異は認められなかつた。

考 案

結核菌体多糖類分割による皮膚反応の組織学的研究については、安平¹⁾、平田²⁾等の報告があるが、安平は無処置家兎では軽い異物性炎を

起すに過ぎないが、感染家兎では軽い Arthus 型反応を齎すかの如くで注射後早期の多核白血球反応とこれに続く単球反応が簡単に消失し

て、あとに細静脈周囲の形質細胞の浸潤を貼すとして居り、平田等は多糖類は早期に於いて多核白血球の強い遊出を促すと述べている。

私の場合も前述の如くこれ等と大体類似の成績を得たが、早期に於ける多核白血球の強い浸潤並びに後期の著明な形質細胞の浸潤は見る事が出来なかつた。これ等については抗原の精製度並びに使用量、注射部位等、研究方法の相異が考えられるが、何れにしても多糖類によつては、蛋白分割及びツベルクリンに於ける様な後期の強い単核細胞浸潤は惹起されないようである。

一方磷脂質による皮膚反応の組織学的研究は、Smithburn & Sabin³⁾、Roulet & Bloch⁴⁾、Takeda & Ogata⁵⁾、天野・平田⁶⁾、安平¹⁾、新保⁷⁾等により発表されている。

Smithburn & Sabinは強い多核白血球反応を経て3日目より類上皮細胞を、次いで7日目より巨細胞の発現を見て居り、天野・平田は48時間後より類上皮細胞、5日目より Langhans 型巨細胞の出現を報じ、Takeda & Ogataは14日目に類上皮細胞の強い形成並びに巨細胞、膠様線維の形成及び多核白血球壊死籠の出現を

述べ、Roulet & Blochは非特異的な白血球反応の後、2週後に類上皮細胞が生じ、3週間目には淋巴球の層と巨細胞をもつ結節となることを報じている。又安平は感染家兎のみならず無処置家兎に於いても4乃至5日目頃より単球の類上皮細胞化及び巨細胞化を報じ、新保は脂質成分が類上皮細胞の形成に最も重要であるが、大量を使用すると白血球反応が強く類上皮細胞の形成は却つて阻害されると述べている。

これ等諸家の研究を見るに抗原の注射量及び研究方法等の違ひもあり、出現の時期については可成りの相違が見られるが、類上皮細胞の形成並びに巨細胞の出現については大体一致した見解が得られている。併しながら磷脂質注射により皮内或は皮下に典型的な結核結節の形成を見ているものは少なく、私の実験に於いても同様に結核結節の形成を見ることは出来なかつた。又 Smithburn & Sabin、安平も述べている如く健全家兎に於いても類上皮細胞及び巨細胞の出現が認められ、その形成速度並びに量的関係を除き、感染家兎と健全家兎の間には本質的な差異は認められない様である。

結 論

結核菌体多糖類は0.1mg、磷脂質は0.25mgを健全家兎並びに結核菌感染家兎の皮内に注射し、その組織学的反応を逐時的に観察し、次の様な成績を得た。

1) 多糖類による組織反応は一般に極めて軽度であり、健全家兎では軽い異物性炎を惹起するに過ぎず、結核菌感染家兎では健全家兎に比しやゝ強いが、早期の多核白血球及び後期の単

核細胞浸潤は速かに消失する。

2) 磷脂質による皮内反応の組織学的変化は注射局所に限局する傾向が強い。早期の多核白血球浸潤が高度であり壊死籠を形成し、5乃至7日目には類上皮細胞化した単核細胞を次いで2乃至3週後には少数の異物型巨細胞の出現を見る。結核菌感染家兎に於ける反応は健全家兎に比し全般的に高度である。

文 献

- 1) 安平公夫：アレルギー，2 (6)，304，1954.
- 2) 平田ともゑ，他：日本血液学会雑誌，12(4～5)，135，1949. 3) Smithburn, K. C. & Sabin, F. R. : J. Exp. Med., 68, 641, 1938. 4) Roulet, F. & Bloch, K. : Virchouis A., 298

- (2), 311, 1936. 5) Takeda, Y. & Ogata, K. : Jap. J. Tbc., 2 (3), 314, 1954. 6) 天野重安，平田ともゑ：医学と生物学，10 (1)，51，1947. 日本血液学会雑誌，9(2)，87，1946. 7) 中川榮一：金大結研年報，13 (上)，85，1955.

8) 秋山舜一：金大結研年報，10(上)，1，1952.
 金大結研年報，10(上)，9，1952. 9) 新保幸
 太郎：アレルギー，4(2)，63，1955.

第1表 多糖類注射による皮膚反応の
 肉眼的所見

発赤径 使用抗原		24時間値		48時間値	
		24時間値		48時間値	
健常家兎	多糖類 (0.1mg)	6 × 7	(-)		
	OT(100倍)	3 × 4	(-)		
結核感染家兎	多糖類 (0.1mg)	9 × 10	7 × 7		
	OT(100倍)	20 × 21 (i)	21 × 21 (i)		

註 iは硬結を示す

第2表 磷脂質注射による皮膚
 反応の肉眼的所見

発赤径 使用抗原		24時間値		48時間値		72時間値	
		24時間値		48時間値		72時間値	
健常家兎	磷脂質 (0.25mg)	10 × 10(i)	8 × 9 (i)	5 × 5 (i)			
	OT(100倍)	(-)	(-)	(-)			
結核感染家兎	磷脂質 (0.25mg)	13 × 14(i)	15 × 15(i)	12 × 13(i)			
	OT(100倍)	26 × 27(i)	26 × 26(i)	21 × 22(i)			

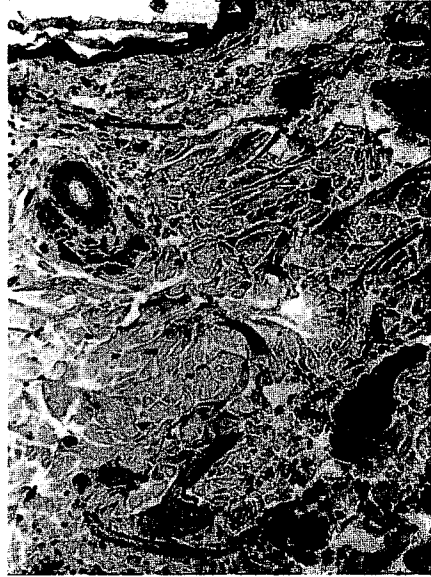
註 iは硬結を示す

上田論文附圖

多糖類 6時間目
(健全家兎)



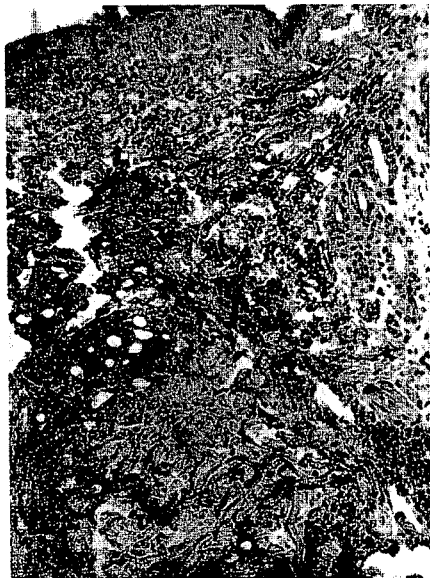
多糖類 6時間目
(結核感染家兎)



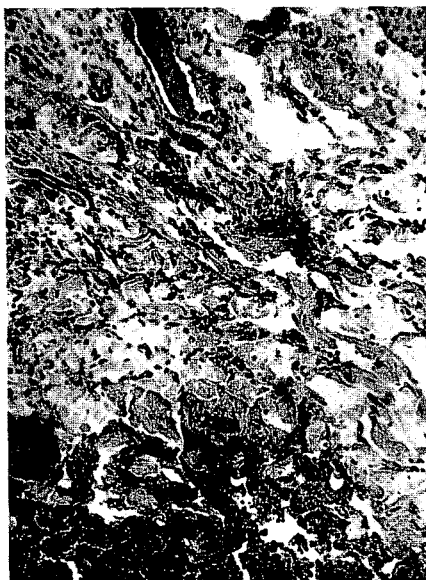
多糖類 48時間目
(結核感染家兎)



磷脂質 12時間目
(結核感染家兎)



磷脂質 7日目
(結核感染家兎)



磷脂質 14日目
(結核感染家兎)



磷脂質 21日目
(結核感染家兎)

