

# ツベルクリン反応の組織学的研究

## 第 2 篇

人型結核菌感染家兎に対する旧ツベルクリン, o-Aminophenol Azo-Tuberculin “Human” 及び o-Aminophenol Azo-Tuberculin “BCG” の皮内注射による組織学的比較研究\*

金沢大学結核研究所細菌免疫部 (主任: 柿下正道教授)

中 川 栄 一

(受付: 昭和30年4月20日)

JIIC I NAKAGAWA : COMPARATIVE HISTOLOGICAL STUDIES OF TUBERCULIN SKIN-REACTIONS

Part 2. Comparative Histological Studies of Tuberculin Reactions Caused by Intradermal Injection of Old Tuberculin, o-Aminophenol Azo-Tuberculin “Human” and o-Aminophenol Azo-Tuberculin “BCG” in Rabbits Infected with Human Type Tubercle Bacilli

*Department of Bacteriology and Immunology, Research Institute of Tuberculosis, Kanazawa University.*

(Director : Prof. Masamichi KAKISHITA)

(Received for publication: April 20, 1955.)

### 緒 言

本篇に於てはツベルクリン反応(「ツ」反応と略記)の組織学的研究のうち, さきに発表した健常家兎に於ける成績<sup>1)</sup>に引続き, 健常家兎皮膚構造の検索所見より得た皮内の血管-神経系を中心として, 人型結核菌感染家兎に対する旧ツベルクリン(OTと略記), o-Aminophen-

ol, Azo-Tuberculin “Human”(OA-Azo-T “Human”と略記)並びにOA-Azo-T “BCG”による「ツ」皮内反応の時間的経過に関する病理組織学的比較成績及び病的血管透過度に就き述べる。

### 実験材料並に実験方法

1) 実験動物: 体重2 kg以上の健常家兎に研究室保存の人型結核菌 Frankfurt 株の Kirchner 又はグリセリン馬鈴薯培養約3週間の菌苔より型の如く菌量5 mg/1.0mlとなる如く均等生理的食塩水浮游液により感染せしめ, 1ヶ月後より3ヶ月目までの間に実験を行った。

2) 使用「ツ」液: オ1篇<sup>2)</sup>に於けると同様である。

3) 注射並に標本採取方法: オ1篇の方法に準じたが, 標本の採取は「ツ」液注射後, 1, 3, 6, 12, 24, 48, 72時間, 5日及び7日目に行つた。但し「ツ」液が100倍量(OT 10倍及び100倍稀釈液と等力価と看做される各「ツ」液の濃度を夫々10倍及び100倍量と記載する)のものは5日目までとした。

4) 組織標本作製術式: オ1編に記載したと同様で

\* (本論文の要旨はオ7回日本細菌学会北陸地方会に於て発表した。)

ある。又、健常家兎皮膚血管系はベルリン青注入標本、神経系は Bielschowsky 氏変法鈴木氏法に依つて検索した、病的血管透過度は 5% 墨汁生理的食塩水 5

ml を耳静脈に注射し、45 分後に「ツ」注射部位を摘除し、型の如く標本を作製してギムザ染色により血管周囲に於ける墨粒の浸淫度を以て判定した。

実験成績

A) 肉眼的所見

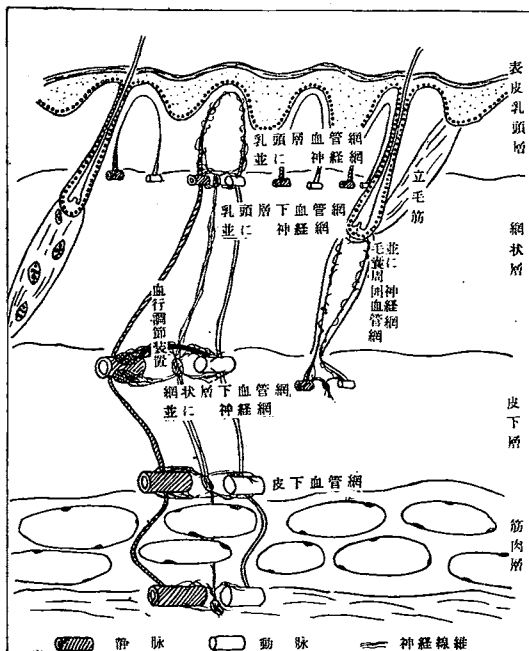
3 種の「ツ」液の 10 倍及び 100 倍量による皮

内反応の 24 時間及び 48 時間目に於ける紅斑直径計測値は表に掲げた通りである。即ち、同一方

3 種の「ツ」液による皮内反応の肉眼的所見 (人型結核菌感染家兎)

家兎番号	「ツ」種類		O T				OA-Azo-T "Human"				OA-Azo-T "BCG"			
	「ツ」濃度		1/10 0.1ml		1/100 0.1ml		10γ/0.1ml		1γ/0.1ml		100γ/0.1ml		10γ/0.1ml	
	判定時間		24時間	48時間	24時間	48時間	24時間	48時間	24時間	48時間	24時間	48時間	24時間	48時間
No. 5	I	I	18×18	16×17	·	·	I	I	·	·	I	I	·	·
							23×23	21×21			21×19	21×23		
No. 6	I	I	19×18	20×20	·	·	I	I	·	·	I	I	·	·
							20×20	19×20			26×21	25×24		
No. 23	·	·	10×10	10×10	·	·	·	·	I	I	·	·	I	I
									13×14	12×9			16×15	20×20
No. 24	·	·	12×12	10×10	·	·	·	·	6×7	8×9	·	·	I	I
													11×12	12×12

第 1 図 家兎皮膚模型図



価量によつて略々同程度の「ツ」反応を惹起せしめ得るが、一般に OA-Azo-T "BCG" による反応が稍々強く現れている。

B) 健常家兎皮膚の血管-神経系に就て健常家兎皮膚のパラフィン切片に就き、ヘマトキシリン・エオジン重染色, Van Gieson 染色, 鈴木氏法による末梢神経線維染色並にベルリン青注入標本等により観察した結果、家兎皮膚真皮層の血管-神経系は第 1 図に示す如き構造を有するものと推定される。

即ち、血管系は乳頭層毛細血管蹄係、乳頭層下血管網、網状層下血管網並に毛竇周囲血管網より成り (此の他、網状層内に血管網が認められる場合もある)、それ等の血管網には神経線維が密に纏絡し、乳頭層下及び網状層下血管網には神経線維束の同行が認められる。又、網状層下血管網には動静脈吻合があり、血行調節装置<sup>9) 10) 11) 12)</sup>も著しく発達している。

私は上記の血管網を中心としての細胞反応並に血管反応に重点を置き顕微鏡的観察を進めた。

### C) 人型結核菌感染家兎に於ける「ツ」反応の病理組織学的所見

#### 1) OTによる反応

10倍稀釈液0.1ml注射の場合は、1時間目より結合織に浮腫及び膠原線維の膨化がおこり、小血管充盈も著しく、次第に多型核白血球を主体とした細胞浸潤が加わる。6時間目には血管障碍の像が強くなり、細静脈の高度な拡張、鬱血血流停止像と共に、毛細血管網部には広範な濾出性出血が認められる。出血は時間の経過とともに吸収されるが細胞反応は漸次増加し、24時間目頃までは多型核白血球が主体となつてゐるが、以後は退行変性に陥つて減少し、48時間目頃より単球を主体とした単核細胞の増加が目立つてくる。72時間目に到つて組織反応は最高度となり、血管及び結合織の障碍像のみならず、血管を中心とせる大型単核細胞の累積により、結節状構造を呈した肉芽性炎を形成する。然し結核結節と看做し得る根拠には乏しい。5日目以後は漸次治癒過程に入り、クロマチンに富む小単核細胞の比率は増加し、7日目に反応像は略々消褪する。

100倍液0.1mlによつても大略同様な反応経過を辿るが、注射後6時間目の血管障碍像は10倍液の場合に比し遙かに少く、多型核白血球は凡そ24時間目頃に単球と交替し、48時間目以後に微弱ながら結節性肉芽性炎の像を形成し、5日目に反応像は消褪する。

#### 2) OA-Azo-T “Human”による反応

10 $\gamma$ /0.1mlの皮内注射に依つては、1時間目より結合織の浮腫及び線維の膨化が見られ、血管充盈も起つてゐるが、細胞反応では多型核白血球の浸潤がOTの場合より遙かに軽度である。また6時間目より静脈の拡張と鬱血が見られるが出血像は少い。12時間目頃より血管反応と多型核白血球の増加があり、24時間目には最高度となり、其の後は単球を主体とした単核細

胞性反応となる。即ち、48時間目の標本は夥しい単核細胞による明瞭な増殖性炎の像を呈し、72時間目には血管網を中心として定型的な結節性肉芽性炎を形成し、血管及び結合織の変化も著明である。然し結核結節に一致する所見は得られなかつた。5日目の所見もその延長像であるが、炎症性変化は次第に減少し、7日目には軽度な血管充盈と細胞浸潤を貼して反応の主要経過は終る。

1 $\gamma$ /0.1mlによる変化は更に特徴を明瞭に現し多型核白血球に全く乏しい細胞反応が見られ、全経過を通じて多型核白血球が単球を凌駕する事は殆どなく、24時間目より既に単球を主体とした結節状構成が認められ、之は72時間目まで明かに持続する。5日目に到れば反応炎症像は略々消褪する。

#### 3) OA-Azo-T “BCG”による反応

100 $\gamma$ /0.1mlによる皮内反応では、血管充盈と浮腫及び膠原線維の膨化のほか、早期より多型核白血球の活動があり、3時間目には夥しい多型核白血球浸潤が見られるが、6時間目には減少し、単球の漸増がおこる。単球は以後表層より皮下に向い次第に多型核白血球と交替し、48時間目には略々単球性反応となる。血管反応も12時間目頃より次第に増加し、72時間目には著明な鬱血、血栓及び小出血像が見られ、細胞反応ではOTの場合に類似した増殖性炎の像となる。5日目の組織像は漸次修復に向い、3種の「ツ」反応の間の相異点は乏しくなる。7日目にも多少の炎症像は存するが、反応の主要経過は略々終つたものと観察される。

10 $\gamma$ /0.1mlによつても初期より血管及結合織には同様な変化が起り、3～6時間目に多型核白血球浸潤が加わる。多型核白血球はそれ以後単球の漸増により置き換えられ、血管反応の増加と共に48時間目には略々単球性反応となり、72時間目には結節状構造を形成し5日目に反応の主要経過は殆ど消褪する。

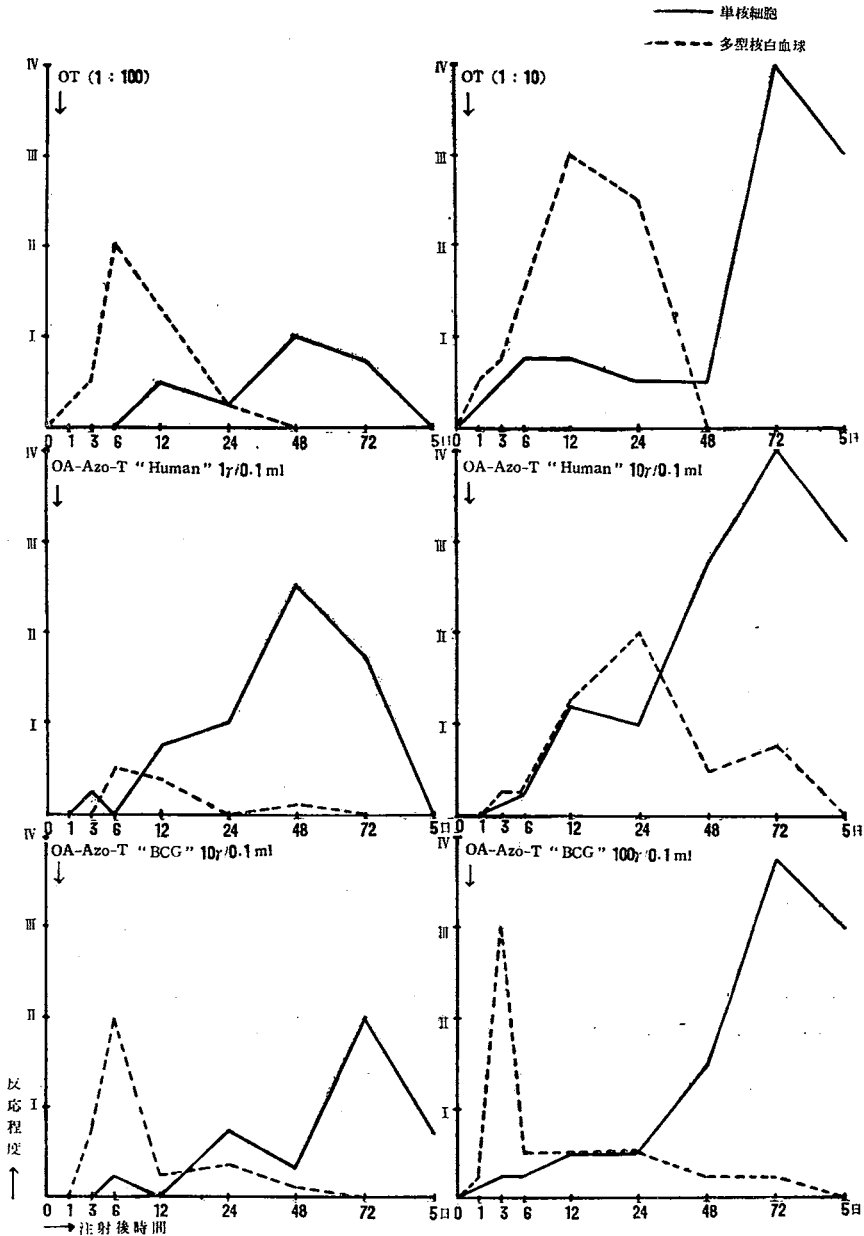
猶、各「ツ」反応の48時間目以後に見られた結節性肉芽性炎は毎常出現する組織所見とは限

らない。即ち、弥漫性細胞浸潤のみで反応の消褪する場合もあるが、之は動物の種類、個体的感受性、感染よりの期間、「ツ」液の種類及び濃度等の因子により左右さる可きものと考えられる。然し一定の「ツ」感受性を得た動物に対しては OA-Azo-T “Human” による反応が他

の2種の「ツ」液よりも結節性肉芽性炎を形成し易い事は确实と信ぜられる。

以上3種の「ツ」液の10倍及び100倍量による皮膚反応の組織学的成績のうち、特に血管—神経系を中心とする細胞反応の時間的経過は第2図に示した通りである。

第 2 図 血管神経系を中心とする細胞反応の時間的推移 (人型結核菌感染家兎)



D) 病的血管透過度<sup>13)</sup>に就て

「ツ」反応局所に於ける血管透過度の亢進に関しては後に総合的な研究結果の発表を予定している。反応局所の血管に著しい透過度の亢進

がある事は既に実証されており<sup>14)</sup>、血管内墨汁注入実験では、出血部分に一致した毛細血管乃至細静脈附近に墨粒の浸淫を認める事が出来た。

## 総括並に考按

従来、「ツ」反応の病理組織学的研究に関しては反応局所の組織像が結核結節に一致するか否かに論争点があつた。即ち「ツ」反応局所の組織像が必ずしも結核結節に一致する構造を示すことがないのは Zieler<sup>15)</sup>、Selter<sup>16)</sup>等の激しい論争によつても窺われるところであり、其後、斯かる見解の不一致に対し新たな論説を掲げたのは、Dienes & Mallory<sup>17)</sup>であつた。彼等は主として結核海癩に対し Sauton 培養濾液による OT の皮内反応を観察し、その組織像は注射後6時間目までと24時間目以後に於ける単核細胞性反応が特徴的である事を指摘した。本邦に於ては天野氏<sup>18)</sup>、仙場氏<sup>19)</sup>等は結核海癩に対する「ツ」反応の皮下伸展標本によつて細胞反応が単球性である点を強調し、略々 Dienes 等に一致した見解を表明している。然し乍ら馬杉氏<sup>7)</sup>は動物、日置氏等<sup>20)</sup>は人体に於ける「ツ」反応の組織学的所見から、単球乃至単核細胞性反応が「ツ」反応の特異点とは看做し難い事を報告し、反対している。又最近の研究に於ても Catel u. Wurm<sup>21)</sup>は人体の「ツ」反応に就て結核結節を証明したと報告している。即ち、「ツ」反応の組織像に関する諸家の見解には尚充分な帰結点を見出し得ない現状である。

私が人型結核菌感染家兎に於ける組織学的研究を試みた目的は、「ツ」反応の組織学的基本型式に関する考察を行わんとする事はもとよりであるが、当研究所に於て創製せられた OA-Azo-T による「ツ」反応と、従来一般に使用せられている OT による反応との異同如何を考查する点にある。而して、先人の研究に於ては細胞反応の態度に重点が置かれていたが、私は組織反応をも重視し、先ず家兎皮膚の血管—神

経系を組織学的に明かにした、「ツ」反応による局所の浮腫及び血管拡張には当然自律神経支配の影響が考えられるが<sup>22)</sup>、血管系に就ては石川教授等<sup>23)</sup>等は其の終末分岐部の化学的感受性を重視している。本研究に於ても之等の点を考慮し、神経終末と密接な関係を持つ毛細血管網を中心として、血管反応と細胞反応に重点を置いて観察を進めた。

私の行つた3種の「ツ」液によつて得られた成績では OT によつても又 OA-Azo-T によつても、一般に「ツ」反応局所に於ける病理組織学的経過は、注射直後に起る膠原線維の膨化及び小血管の充盈に続いて多型核白血球を主体とした細胞浸潤が加わり、6時間目頃には血管障碍、即ち、血栓形成、鬱血及び出血等の所見が現れる。以後多型核白血球の活動は凡そ24時間目頃まで持続するが、単球を主体とした単核細胞が漸次増加し、24時間目以後は多型核白血球に替り細胞反応の主役を演ずる。而して之等細胞は、48時間目以後に血管網を中心として結節状に集簇し、結節性肉芽性炎を形成する傾向が見られる。然し結核結節と看做し得る根拠、即ち定型的類上皮細胞やラングハンス氏巨細胞は見られなかつた。又結合織と血管にも24時間目頃から再び種々な程度の障碍像を認めるが、72時間目以後に於て細胞浸潤の減少と共に反応像は次第に消褪し、局所は修復される。

斯かる変化の推移並に持続は「ツ」液の種類及び濃度と密接な関係があり、一般に低濃度では組織の障碍及び細胞反応は軽度であり、多型核白血球と単球の交替は比較的早期に行われ、又反応像の持続期間も短い。

而して同一力価量の OT と OA-Azo-T “Human” による反応経過を比較した場合に

は、其の間にかなり著しい差が認められ、注射後12時間目までの早期反応では、OT の場合は注射直後より多型核白血球の遊出が見られ、数的にも多く、又血管に対する障害作用も強く認められる。之に反し OA-Azo-T“ Human” の反応では多型核白血球の浸潤は比較的遅く現れ、数的にも少く、且つ血管に対する障害は OT よりも遙かに弱い。24時間目以後の後期反応に就いて見ると、OA-Azo-T“ Human” によつては24~48時間目頃より増殖性変化が顕著となり、定型的な結節性肉芽性炎を形成する傾向を明かに認めるが、OT では48時間目以後に於て始めてその傾向が現れ、後期反応が却つて遅延する事を指摘し得る。殊にOA-Azo-T“ Human” 1γ, 0.1ml による反応経過は甚だ特徴的で、早期反応では多型核白血球浸潤が極めて軽微であつて終始単核細胞の数を凌駕する事なく、後期反応では24時間目頃より既に定型的組織像を形成する。即ち、OA-Azo-T“ Human” によつて天野氏等が力説する殆ど純粋な単球性の「ツ」型反応を認める事が出来た。

一般に知られている如く、OT に含まれる生

## 結 論

人型結核菌感染家兎に対し、OT, OA-Azo-T “Human” 及び OA-Azo-T “BCG” を皮内注射し、夫々による「ツ」反応局所を組織学的に比較研究した。観察に当つては特に血管—神経系を中心とした細胞並に組織反応に重点を置いた。得られた成績は次の通りである。

1) 「ツ」反応時の組織学的変化には、従来の報告の如く膠原線維の膨化及び血管反応に加えて細胞反応が見られる。

2) 細胞反応は早期(6~12時間後)反応と後期(24時間目以後)反応に大別され、前者は多型核白血球が主体となつており、後者は単球

物学的要素は必ずしも均一ではなく、之が今日まで「ツ」反応の病理組織学に少なからざる混乱を与えていた原因の一部である事が想像される。OA-Azo-T は常に一定した力価の製品が得られる事は既に発表されている通りであるが<sup>25)</sup>、非特異性因子が少く、且つ「ツ」活性因子が最も有効に抽出されている事は、以上の組織学的成績からも充分肯定される処である。

OA-Azo-T“ BCG” の反応も一般の「ツ」型反応と略々同一経過を取るが、100γ, 0.1ml 注射の場合は早期にかなり著明な多型核白血球浸潤が起つている。之は BCG 「ツ」液が人型結核菌「ツ」液と生物学的に異なる点を有すると考えられるので、両者の組織像の差異は本質的のものか、或は使用濃度に原因を求むべきか明らかでないので、今後の研究に俟ちたい。OA-Azo-T“ BCG” による後期反応に就ては OT よりも速かに単球性反応に移行する事を認める事が出来る。

血管透過度に関しては、「ツ」反応陽性の場合には一般に著明な血管透過性の亢進を認めるが、その詳細な成績は後程の発表に譲りたい。

## 論

が主体となつている。48時間目以後には結節性肉芽性炎に移行する傾向を示す。

3) OA-Azo-T “Human” による反応は多型核白血球浸潤に乏しく、且つ速かに後期反応に移行する事が認められた。

4) 以上の組織学的研究の結果から、OA-Azo-T “Human” は非特異性因子に乏しく、最も定型的「ツ」型組織反応を惹起することを明かにした。

5) 観察の範囲内では「ツ」反応により結核結節に一致する組織所見は認める事が出来なかつた。

## 文 献

8) 中川栄一：金大結研年報，12(中)，49，1954。

9) Clark, E. : *Physiol. Reries*, 18, 229, 1938.

- 10) Clara, M. : Verhandl. deut. Geselsch. f. Kreislauf-forsch., XI, 226, 1938. 11) Krause, R. : Arch. mikro. Anat., 59, 407, 1920. 12) Tischendorf, F. : Z. mikros. Anat. Forsch., 43, 153, 1938. 13) Menkin, V. : Newer Concept of Inflammation(林秀男訳, 医学書院), 1954. 14) 上田稔, 他 : 未発表 15) Zieler, K. : Beitr. Klin. Tbk., 64, 94, 1926. 16) Selter, H. u. Tancre : Beitr. Klin. Tbk., 60, 437, 1925. 17) Dienes, L. & Mallory, T. : Amer. j. Path., 8, 689, 1932. 18) 天野重安 : 最新医学2(1), 23, 1947. 及び血液学の基礎 上巻, 723, 1948. 19) 仙場博 : 札幌医大紀要, 2(3), 133, 1951. 及び, 札幌医大紀要, 2(4), 194, 1952. 20) 日置治男, 他 : 総合医学, 10(12), 30, 1953. 21) Catel, W. u. Wurm, H. : Mschr. Kinderheilk., 101, 403, 1953. (Zentb. Ges. Tbk-forsch., 66(1/2), 43, 1954. を参照) 22) 吳健 : 自律神経系, 541, 1944(克誠堂) 23) 石川太刀雄丸 : 血液学討議会報告, 3, 178, 1949. 24) Ito, R. and Koschimura, S. : Jap. Med. J., 2(4), 185, 1938.

### Summary

Rabbits infected with a human type strain of *Mycobacterium tuberculosis* were used as experimental animals. After intradermal injection of the three tuberculins, OT, o-Aminophenol Azo-Tuberculin "Human" and o-Aminophenol Azo-Tuberculin "BCG", the affected parts of the skin were cut out at various intervals, and a comparative study of the histological changes was carried out.

The results of the present study may be summarized as follows:

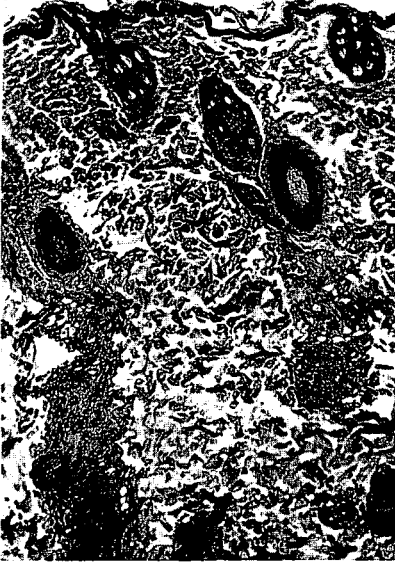
- 1) Regardless of the difference in kind of the tuberculins, congestion of blood vessels (at times combined with bleeding), edematous swelling of the connective tissue, and cellular infiltration at the site of the tuberculin reaction areas were always observed. And the cellular reaction generally begins with predominant appearance of polymorphnuclear leucocytes (6-24 hours after the injection), which is followed by increase of mononuclear cells, and then by formation of granular inflammation in the perivascular areas (within 48-72 hours).
- 2) Precise observations revealed that the cellular reactions caused by o-Aminophenol Azo-Tuberculin "Human" differed from that caused by OT in the following two respects:
  - a) Feeble response of polymorphnuclears, and
  - b) Rapid proceeding to the granular inflammation.
- 3) It is noteworthy that development of typical tuberculous tubercles was observed in none of the experiments even seven days afterwards.

On the basis of the histological studies just described, it may well be said that the Azo-Tuberculin preparations is quite free from all contaminations that may produce non-specific histological reactions.

中川論文附圖 (1)

OT (1:10)

6時間目



(広範な出血像)

OA-Azo-T "Human" 10 $\gamma$ /0.1ml

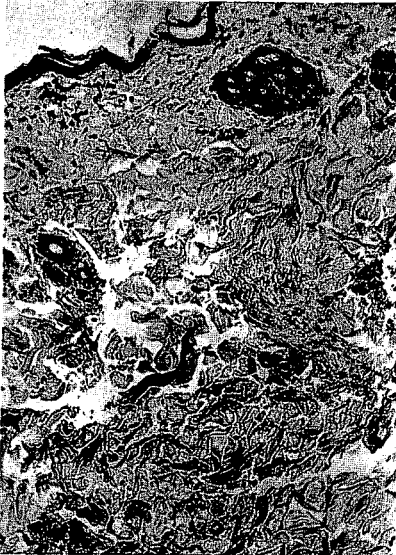
6時間目



(細胞浸潤は未だ少い)

OT (1:100)

24時間目



(特異的な変化は未だ少い)

OA-Azo-T "Human" 1 $\gamma$ /0.1ml

24時間目

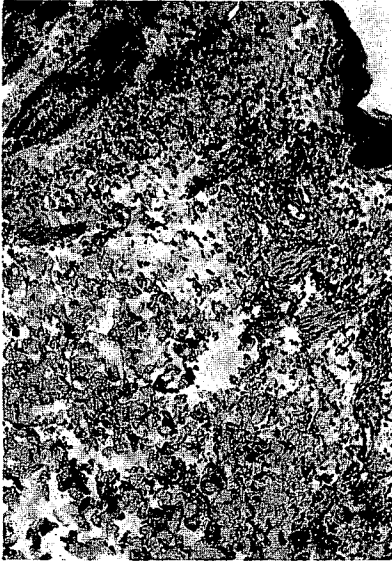


(既に増殖性炎となる)



中川論文附圖 (2)

OA-Azo-T "Human" 1 $\gamma$ /0.1ml  
48時間目



OA-Azo-T "Human" 10 $\gamma$ /0.1ml  
72時間目



(定型的な結節性肉芽性炎)

OT (1:100)  
48時間目



OT (1:10)  
72時間目

