

ツベルクリン反応の組織学的研究

第 I 篇

健常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: 柿下教授)

中 川 栄 一

Eiichi Nakagawa

(受付 昭和29年3月1日)

Eiichi Nakagawa : HISTOPATHOLOGICAL STUDIES ON TUBERCULIN REACTIONS

Part I : Comparative Studies on histological Findings caused by intradermal Injection of Old Tuberculin, o-Aminophenol Azo-Tuberculin “Human” and o-Aminophenol Azo-Tuberculin “BCG” in normal Rabbits.

The Immuno-bacteriological Department of the Research Institute of Tuberculosis in Kanazawa University. (Director : Prof. M. Kakishita)

(Received for Publication : March, 1, 1954)

緒 言

ツベルクリン反応(「ツ」反応と略記)の病理組織学的研究は今日迄にも屢々研究者に採り挙げられているが、私は本研究所に於て創製された o-Aminophenol Azo-Tuberculin (O. A. Azo-T. と略記)の効用に関する基礎的研究として、旧ツベルクリン(O. T. と略記)を対照とする両「ツ」皮膚反応の病理組織学的解析を行った。

O. A. Azo-T. は精製「ツ」として著しい特質を有するものであることは、柿下教授²⁾並に其の門下生³⁾⁴⁾による臨床成績によつて明らかな通りである。即ち人型結核菌培養濾液より精製された O. A. Azo-T. “Human” (A. T. “Human” と略記)は自然感染者に対し反応度高く、而も BCG 接種者には微弱であり、又 BCG 培養濾液より精製された O. A. Azo-T.

“BCG” (A. T. “BCG” と略記)は自然感染者に対する等力価量では BCG 接種者に対し A. T. “Human” よりも遙かに反応度高く、従つて兩種 O. A. Azo-T. の自然感染者に対する等力価量を以て或程度自然感染者と BCG 陽転者とを鑑別しうることが指摘せられている。

以上の知見に対する病理組織学的観点よりの解析は未だ行われていなかつたので、私は本問題の研究に当り O. T. “Human” 並に兩種 O. A. Azo-T. をもつてせる皮膚反応を、正常動物、人型結核菌感染動物並に BCG 感染動物について比較研究する事が必要と考え、本篇に於ては健常家兎に 3 種「ツ」を皮内注射しその病理組織学的所見を比較検討したので御批判を仰ぐ次第である。

実験材料並に実験方法

- 1) 使用動物: 体重2疋前後の健康家兎を使用した。
- 2) 使用ツベルクリン液(「ツ」液)
- (i) 旧ツベルクリン(O. T.): グリセリン・ブイヨン培養より作製した教室保存の「ツ」原液を滅菌生理的食塩水を以て10倍及び100倍に稀釈して使用した。
- (ii) A. T. “Human”: 人型結核菌 Sauton 培養濾液より当研究所に於て作製した A. T. “Human” を硼酸緩衝生理的食塩水 (PH 7.8) を以て0.1cc 中1 γ 及び10 γ を含有する如く溶解して使用した。
- (iii) A. T. “BCG”: BCG 培養濾液より A. T. “Human” と同様に作製せるもので使用方法も之に準じた。使用量は0.1cc 中の含量を10 γ 及び100 γ とした。

以上3種の「ツ」液に就て、人体皮膚反応 (BCG非接種成人) による等力価量より換算し、略々同一力価を有すると看做される O. T. 10倍液, A. T. “Human”

10 γ /0.1cc, A. T. “BCG” 100 γ /0.1cc (之等の量を10倍量と略記) による一連の実験を行い、更に其の $\frac{1}{10}$ 量、即ち O. T. 100倍液, A. T. “Human” 1 γ /0.1cc, A. T. “BCG” 10 γ /0.1cc (之等の量を100倍量と略記) によつて同様な実験を行った。

3) 注射並に標本採取方法:

家兎背部の皮膚を損傷せぬよう剪毛し、5 cm 以上の間隔を置いて、O. T., A. T. “Human”, A. T. “BCG” の同一力価量を0.1cc 宛同時に皮下注射し、1, 3, 6, 12, 24, 48, 72時間後と追時的に該部を皮下組織まで摘除し、固定後、組織標本作製に移つた。

4) 組織標本作製術式:

主として Susa 氏固定液を用い、型の如く6~7 μ のパラフィン連続切片とし、ヘマトキシリン・エオジン重染色、ギムザ染色を施した。又必要に応じてアザン染色、ヴァン・ギーソン染色をも併せ行つた。

実験成績

A) 肉眼的所見

第1表は皮内注射局所に於ける24時間目及び48時間目の紅斑直径計測値である。即ち正常動物に於ても局所に弱い発赤を来すが硬結を欠き、限界は不明瞭で、48時間後には全く消滅した。

B) 病理組織学的所見

1) O. T. を以てせる実験

(i) O. T. 10倍液注射の場合

1時間目: 組織は強い浮腫を呈し、淋巴管の拡張を見る。毛細血管に中等度の充盈像が認められ、遊走細胞は血管周辺に存し、主として多形核白血球で、乳頭層には少数の単球が散在する。

第1表 3種「ツ」皮内注射による肉眼的所見

家兎番号	「ツ」種類		O. T.				A. T. “Human”				A. T. “BCG”			
	「ツ」種		$\frac{1}{10}$		$\frac{1}{100}$		10 γ /0.1cc		1 γ /0.1cc		100 γ /0.1cc		10 γ /0.1cc	
	測定時間		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. 2	8×8	4×4	—	—	4×4	—	—	—	—	4×5	—	—	—	
No. 3	—	—	—	—	4×5	—	—	—	—	5×5	—	—	—	

3時間目: 膠原線維は強く膨化し、また血管充盈の像も強くなり、血栓及び軽度な滲出性出血を呈する部分もある。多型核白血球は数を増し、瀰漫性に真皮層全般に分散している。之に少数の単球も混在するが、単球は主として乳頭層に存し、此の層ではまた線維芽細胞及び組織球の軽度な増加を認める。

6時間目: 3時間目所見と大差はないが、乳頭層では単核細胞が優勢となり、多型核白血球は乳頭層に少く皮下に近接するに従い数を増す。線維の膨化は少々減少している。

12時間目: 全般に単核細胞が増加し、真皮層では多型核白血球は減少し、単球及び線維芽細胞の数が之を

凌駕する。皮下に近接するに従い多型核白血球は依然多数を占めている。

24時間目：全般的に細胞成分多く、小血管の充盈像並に膠原線維の膨化も強く、従つて経過中最も高度な変化を呈している。細胞成分は、真皮層に於ては主として単球及び線維芽細胞で、皮下層では多型核白血球が優勢であるが、核の変性を呈したものが多。

48時間目：線維の膨化は多少減じているが、遊走細胞はなお多数存在し、真皮層、皮下層全般に渉つて単球、線維芽細胞、組織球の増加を認めることが出来る。皮下層に於てはなお多型核白血球が多く、退行性変化に陥つたものも数多く認められるが、その破壊されたものは、エオジンに好染せる大型単核細胞によつて旺に喰食されている像を見る。血管の拡張、充盈像も可成り著しい。なお24及び48時間目の標本中、少数の淋巴球が散見された。

72時間目：結締織化が顕著となり、急性炎症像は略々消褪する。即ち表皮の肥厚、線維細胞の増加、多型核白血球の消失を認めるが、少数の単球及びなお可なりな小血管拡張を残している。

(ii) O. T. 100倍液注射の場合

1時間目：組織の浮腫及び毛細血管の充盈を軽度に認めるが、細胞浸潤は甚だしく、僅かな単球と、多型核白血球を見るに過ぎない。

6時間目：組織の浮腫及び膠原線維の膨化は強く、血管の拡張、充盈も稍々程度を増し、遊走細胞も数を増すが、10倍液の注射の場合に比し遙かに軽度である。

12時間目：浮腫及び線維の膨化は稍々減退するが、遊走細胞の数及び血管充盈の程度は増し、真皮層では単球が、皮下層では多型核白血球が優勢である。又全般に線維芽細胞の増加が認められる。

24時間目：線維の膨化は稍々増し、遊走細胞も多く、全般的に単球及び線維芽細胞が優勢で多型核白血球は比較的僅少である。又少数の淋巴球も認められる。小静脈の拡張は可なり著しい。

48時間後：急性炎症は略々消褪し、僅かな線維芽細胞を見るに過ぎない。線維細胞の増加も著明ではない。血管拡張像はなお軽度乍ら残つている。

2) A. T. "Human" を以てせる実験

(i) A. T. "Human" 10 γ /0.1cc 注射の場合

1時間目：膠原線維は強く膨化し、毛細管充盈像も可なり強度で血径を認める部分もある。遊走細胞は僅

少で、単核細胞が多型核白血球よりも多い。

3時間目：線維の膨化と血管充盈の像は依然強く、遊走細胞も多少増加する。即ち多型核白血球は血管周囲に多く、また組織全般にも散在し、之に少数の単球及び淋巴球が混在する。線維芽細胞も稍々増加している。

6時間目：線維の膨化は減退、遊走細胞は増加し瀰漫性に組織全般に拡がり、なお多型核白血球が大部を占めるが、真皮層では単球も可成り著明に増加している。充盈像は依然強い。

12時間目：略々6時間所見と大差はないが単球の増加、多型核白血球の減少及び深層への移動があり、淋巴球が散見される。

24時間目：全般に単核細胞の増加が目立ち、単球は真皮層に於て、多型核白血球は皮下層に於て優勢である。又多型核白血球の変性、破壊が起り、喰細胞の喰食像を見る事が出来る。膠原線維の膨化及び小血管の充盈像は可成り強度で出血を呈する部分もある。

48時間目：炎症像は減退し、軽度な線維の膨化と小静脈の拡張像を見る。多型核白血球は著しく減少し線維芽細胞の増加が目立っている。

72時間目：僅かな遊走細胞及び小静脈の拡張を認めるのみで、反応は略々消褪したものとと思われる。

(ii) A. T. "Human" 1 γ /0.1cc 注射の場合

1時間目：膠原線維の膨化は軽度で、浸潤細胞も僅かに乳頭層のみに存し、少数の単球及び極めて僅かな多型核白血球及び淋巴球を散見するに過ぎない。

6時間目：遊走細胞は稍々増加するが、多型核白血球は少く、乳頭層では単球、線維芽細胞及び少数の淋巴球を認め、深層に移るに従い多型核白血球を血管周囲に見る。毛細管の充盈は稍々増加する。

12時間目：浸潤細胞は全般的に増加し、其の細胞構成は単球及び線維芽細胞が主体で、皮下に近接するに従い散在性に多型核白血球を見るが、単核細胞を凌駕することはない。線維の膨化及び小血管の充盈は増加し、静脈の可成り著明に拡張したものを見る。

24時間目：細胞成分は減少し、全般的には僅かな単球及び線維芽細胞を、皮下組織内には更に僅かな多型核白血球を認めるに過ぎない。充盈像及び線維の膨化も減退している。

48時間目：僅かに小静脈の拡張と少数な単球及び線維芽細胞を認めるに過ぎず、反応は略々消褪したものとと思われる。

3) A. T. “BCG” を以てせる実験

(i) A. T. “BCG” 100 γ /0.1cc 注射の場合

1 時間目：膠原線維の膨化及び毛細管の充盈像は強度で、網状層より皮下にわたる小出血部を見る。遊走細胞は未だ少く、多型核白血球及び単核細胞を散在性に認めるに過ぎない。

3 時間目：毛細管の充盈及び線維の膨化は減退し、著しい多型核白血球の瀰漫性浸潤を見る。単球もかなり増加し、少数の淋巴球及び組織球も認められる。

6 時間目：真皮層では多型核白血球が減少し、全般的に単球が増加する為、真皮層では単球が、皮下に移るに従い多型核白血球が優勢である。

12 時間目：多型核白血球は漸次減少し、真皮層では明らかに単球が優勢となるが、皮下組織に於ては多型核白血球が依然多数を占め、退行性変化を呈したものもある。線維芽細胞も増加を認める。

24 時間目：全般に多型核白血球の減少、単球及び組織球の増加があり旺な喰食の像を見る。小血管の充盈及び線維の膨化は稍々増加している様である。

48 時間目：多型核白血球は著しく減少し、単核細胞の占める割合は更に大となる。膠原線維の膨化及び血

管充盈像ともに減少しているが、毛細管周囲に出血を認める部分があつた。表皮には肥厚が見られる。

72 時間目：著明な結合織の増加が起つているが、なお僅かながら大型単核細胞及び小静脈の拡張像を認めることが出来る。

(ii) A. T. “BCG” 10 γ /0.1cc 注射の場合

1 時間目：膠原線維の膨化及び毛細管の充盈像は強いが、細胞浸潤は少く、主として単球より成る。

6 時間目：多型核白血球の増加は可成り著しく、単球も増加している。之等の細胞は広く瀰漫性に真皮層より皮下にわたつて散在する。膠原線維の膨化及び血管充盈の像は前時間所見と同程度である。

12 時間目：多型核白血球は減少し、単球及び線維芽細胞の増加が目立つてくる。線維の膨化及び血管の充盈は僅かなら減退している。

24 時間目：多型核白血球は僅少となり、単球、線維芽細胞及び組織球が浸潤細胞の大多数を占める。線維の膨化は次第に減ずるが、なお小静脈の拡張が見られる。

48 時間目：少数乍ら単核細胞及び小静脈の拡張があるが、反応はほぼ消褪したものと思われる。

小 括

正常動物に対する O. T., A. T. “Human” 及び A. T. “BCG” の皮内注射局所に於ける変化の組織学的推移を概括すれば、

1) O. T. 注射の場合

10 倍液によつては、注射後 1 時間目頃より小血管の充盈、膠原線維の膨化に加えて、血管周囲に多型核白血球を主体とする細胞浸潤が起り、3 時間目頃には細胞は瀰漫性且つ高度に組織内に拡がるが、以後表層より次第に減少し単球が之に替わり、此の交替現象は時間と共に深層に向つて移動する。24 時間後には組織変化、細胞成分の増加共に強く、炎症は再燃せるかの感を呈するが、著しく単球性の性格を帯び、多型核白血球は退行性変性に陥り、喰細胞の喰食を受ける。斯かる変化は 48 時間目頃まで持続し、72 時間後に至れば組織は結合織化して炎症像は殆ど消褪する。

100 倍液にあつては、以上の変化は稍々遅れ

て現われ、程度も軽微で且つ変化は速やかに消褪する。即ち 1～6 時間目頃に膠原線維の膨化と小血管の充盈及び多型核白血球を主体とした細胞浸潤を見るが、その程度は 10 倍液に比して遙かに少く、以後多型核白血球は単球と交替し、24 時間後に炎症像は稍々再燃せる様相を呈するが、48 時間後に至れば殆ど消褪する。

2) A. T. “Human” 注射の場合

10 γ /0.1cc の皮内注射によつては、1 時間後、膠原線維の強い膨化と小血管の充盈がおこり、続いて 3 時間目頃から次第に多型核白血球を主体とせる細胞浸潤が見られ、6 時間目には之に相当数の単球が加わる。以後多型核白血球は次第に減じ、表層より深層に向つて単球と交替し、24 時間後真皮層では単球が多型核白血球を凌駕する。48 時間後に至れば急性炎症像は次第に消褪、72 時間には全く痕跡的となつて反応は略々消褪する。

1 γ /0.1ccによる変化は全般的に甚だ軽微で、注射1時間後には軽度な膠原線維の膨化と小血管の充盈を見、6時間後には之に軽度の細胞浸潤が加わるが、多型核白血球は少く単球其他の単核細胞が主体となつている。斯かる炎症像は12時間目を頂点として次第に減退し、48時間後に至れば全く痕跡的となる。而して全経過中多型核白血球の数が単核細胞の数を凌駕することはなかつた。

3) A. T. “BCG” 注射の場合

100 γ /0.1ccによつては注射後1時間にして高度な膠原線維の膨化と稍々強い血管の充盈が見られ、3時間後には著明な多型核白血球の浸潤が加わるが、6時間目頃より其の減少と相俟つて単球の増加がある。単球は表層より次第に多型核白血球と交替し、12時間目には真皮層で

は単球が大多数を占める。24時間後に至れば単球の増加は皮下層に及び、血管及び結締織の変化は多少増加の傾向を示すが、48時間目には減退、細胞成分も減少し、72時間後に於て組織は僅かな炎症像を残し結合織の増加が著しくなる。

10 γ /0.1cc 注射によつては1時間後、浮腫、膠原線維の膨化及び小血管の充盈像稍々強く、軽度な白血球の遊出を見る。6時間後には多型核白血球を主体とした可なり著しい細胞浸潤を呈するが、12時間目に至つてその勢は次第に減退し、単球と線維芽細胞の増加が目立つてくる。24時間後には更に多型核白血球の減少と単核細胞の増加が著明となり、組織の変化も減少し、48時間後に至つて僅かな炎症像を貽すのみで反応は終了する。

考 案

「ツ」反応の病理組織学的研究に関し、O. T. に就いても、そのノルメルギー反応の組織学的解析を精細に行つた業績は比較的乏しく、Nikolajew⁵⁾、Angevine & Seastone⁶⁾、馬杉⁷⁾、等が僅かに其の成績に就いて述べているに過ぎない。而して「ツ」のアレルギー反応とノルメルギー反応との間に本質的な差異を認め難いことは、それ等先人の共に指摘している事実であつて、感受性動物と正常動物の反応間には、程度に於て差が認められるに過ぎないとしている。然し乍ら之等の実験は、主として化学的組成の不均一な O. T. に就いて行われた実験であり、又 Angevine & Seastone は精製「ツ」である PPD を用いているに拘らず、感受性動物として BCG 感染家兎を使用し比較している点、結論の導き方には首肯し難いところがある。此の事に関しては更に後篇に於て触れる予定である。

本篇では正常動物に対する O. A. Azo.-T. の皮内注射による変化の組織学的経過を O. T. の場合と比較考察することを目的としたが、先づ「ツ」皮内注射により惹起される共通な変化過

程に就いて考察すれば、一般に想像されているよりも「ツ」の正常動物に対する局所的影響は大なるものがあり、此の点に関しては先人の意見に共感させられるところがある。

即ち、正常動物にあつても普通結核感染の診断に利用される濃度の「ツ」皮内注射により、O. A. Azo.-T. にあれ O. T. にあれ早期より膠原線維の膨化、小血管の充盈、及び血栓、出血の像を認め、続いて多型核白血球を主体とする細胞浸潤が加わり、之は時間の経過と共に次第に単球と交替し、凡そ24時間目を頂点として消褪することは略々共通した経過と見ることが出来る。

「ツ」濃度を低下させることにより、一般に組織の障碍は軽減され、又多型核白血球の遊出は遅れ、数的にも少く、且速かに単球と交替して炎症経過は短縮される。

然し乍ら O. T., A. T. “Human” 及び A. T. BCG の夫々に就き検討すると、其の間には遊出細胞の量的並に時間的な差が存し、一般に O. A. Azo.-T. による多型核白血球の遊出は O. T. によるよりも遅れ、且つ早期に細胞浸潤の減退

を認めることが出来る。殊に O. T. と A. T. “Human” の比較に於て此の關係が明瞭で、O. T. では注射24時間後に相当高度な変化を認め48時間目頃まで持続しているが、A. T. “Human” では10 γ /0.1cc注射によるものも24時間後の変化はO. T. 10倍液に比し遙かに軽度で48時間後には明らかに炎症像の消褪を認めることが出来る。100倍量に於ける成績は兩種「ツ」の反応差を更に明瞭ならしめ、100倍O. T. によるものは10倍 O. T. と多少の程度差を認めるに過ぎないが、A. T. “Human” 1 γ /0.1cc注射の組織学的経過は極めて軽微であつて、細胞

結

成人に於ける皮膚反応より換算し略々等力価と看做されるO. T., A. T. “Human” 及びA. T. “BCG” を以て健常家兎に皮内注射を行い、病理組織学的に局所の追次的変化を比較研究したところ、

1) 「ツ」皮内注射によつて一般に早期より膠原線維の膨化、小血管の充盈、血栓形成等の組織変化に加えて細胞浸潤を認める。

2) 細胞浸潤は初期には多型核白血球が主体となつてゐるが、次第に単球と交替し、後期には単球が主体となる。

3) それ等の変化は凡そ24時間目を頂点とし

浸潤も少く、殊に多型核白血球の活躍は全期間を通じて僅微で、數的に単核細胞を凌駕することとはなかつた。

A. T. “BCG” によるものはO. T. とA. T. “Human” の略々中間の反応経過を取る如き結果であるが、初期に於ける多型核白血球の遊出はO. T. よりも稍々高度であつた。

以上の成績より、O. A. Azo.-T. の正常動物に対する注射局所の変化は一般にO. T. より軽微であり、殊にA. T. “Human” では最も僅少であるという事が出来ると思う。

論

て48~72時間後には略々消褪する。

4) 以上の経過は「ツ」の種類及び濃度により量的、時間的な差があり、一般に低濃度では変化が軽度で持続時間が短い。

5) 又O. A. Azo.-T. はO. T. よりも変化の持続期間が短く程度も軽度である。

6) 殊にA. T. “Human” 1 γ /0.1ccによる変化は極めて軽微で、而も終始多型核白血球が単核細胞の数を凌駕することとはなかつた。

7) 以上によりO. A. Azo.-T. の非特異局所作用はO. T. よりも微弱であると考えられる。

Summary

The histological comparison of the local lesions in normal rabbits injected intradermally of old tuberculin, o-aminophenol azo-tuberculin “human” and o-aminophenol azo-tuberculin “BCG” was carried out in this work. Usually there was found in the local injected of these tuberculins, edema of the connective tissue, hyperemia and thrombosis of small vessels accompanying cellular infiltration. Concerning with cellular reaction, there were found predominantly polymorphonuclear

leucocytes in early stage (at 12-24 hours), gradually alternated with mononuclear cells, and then both disappeared from 48 to 72 hours. These microscopical findings became slighter correspondingly to the diminishing of test dose, and were milder by o-aminophenol azo-tuberculin than old tuberculin in respective doses. Especially the inflammatory changes caused by o-aminophenol azo-tuberculin “human” (1 γ in 0.1cc) were the slightest, and polymorphonuclear leucocytes were less predo-

minantly than mononuclear cells in all stages of the cellular infiltration. It was concluded that the local influences of o-

aminophenol azo-tuberculin in non-tuberculous animals were less evident than old tuberculin.

文

献

- 1) 由利：金大結研年報，8 (上)，85，昭24.
- 2) 柿下：東京医事新誌，70 (1)，3，昭28.
- 3) 紺田：金大結研年報，10 (下)，183，昭27.
同上，10 (下)，341，昭27. 4) 山田等：金大
結研年報，11 (下)，127，昭28. 5) Nikolajew：

- Virch. Arch., 264, 458, 1927. 6) Angevine
& Seastone : Am. J. Path., 26, 1011, 1950.
- 7) 馬杉：結核の病理とアレルギー，13，南山堂，
昭21.