



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	毛細管内培養法によるツベルクリンアレルギーの臨床病理学的研究：特にその臨床症候及びツベルクリン細胞反応との関連性について
Author(s)	松田, 利雄; MATSUDA, Toshio
Description	
Citation	結核の研究, 14, 45-54
Issue Date	1961-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/26713
Type	departmental bulletin paper
File Information	14_P45-54.pdf



毛細管内培養法によるツベルクリンアレルギー の臨床病理学的研究

—— 特にその臨床症候及びツベルクリン細胞反応との関連性について ——

松田 利雄

(北海道大学医学部附属病院外科学第1講座 主任 三上二郎教授)
(北海道大学結核研究所病理部 主任 森川和雄教授)

(昭和35年5月1日受付)

結核免疫動物の体細胞がツベルクリン(「ツ」)に感受性を有することは、単に皮膚における「ツ」反応のみならず、漿液膜、肺、その他の臓器におけるアレルギー反応として認められて来ている。一方、Rich¹⁾、Aronson²⁾一派によつて、同様の事実が試験管内においても確かられ、更にこの様な事実は、通常の蛋白感作動物細胞に、その特異抗原を加えても起らず、「ツ」型アレルギーに特異なものであると知られて来た。その後、「ツ」過敏性の組織培養法による研究は、1950年頃より、Favour³⁾、Waksman^{4,5)}等によつて多角的な検討が行なわれて来た。その方法も又種々様々であるが、その多くは結核免疫動物、或は卵白アルブミン感作動物の体細胞についての実験であり、人体、特に肺結核患者の白血球に対する「ツ」の影響、およびこれと症状との関連についての報告は少ない。すなわち1955年 O'Neill & Favour⁶⁾等により、更に最近では、1958年 Citron⁷⁾によつて行なわれた報告が代表的なものであらうと思われる。

著者は、O'Neill & Favour⁶⁾らによる組織培養法を用いて、肺結核患者の血液中の白血球及び血漿を、capillary tube 中に培養し、その白血球遊走により「ツ」過敏性についての観察を行ない、皮膚反応より見たアレルギーと、組織培養より見たアレルギーとの間の対比を試み、特に臨床的所見と「ツ」過敏性との間に何等かの相関がないか、又肺切除術を実施して、主病巣が体外に剔除された場合、如何に組織培養成績に変化を来たすかについて研究を行ない、体内アレルギーの動態をうかがい、よつて「ツ」型アレルギー反応の本態を究明しようと試みた。

一方「ツ」反応の組織学的研究は Klingsmüller⁸⁾の研究以来数多くみられるが、その報告^{9,10,11)}の大部分は動物の皮膚についての研究であつて、人体皮膚についての研究は、1938年前後に発表されている岡¹²⁾、土田^{13,14)}

の諸報告、最近では武藤¹⁵⁾及び日置¹⁶⁻²⁰⁾の報告が主なものである。しかも、岡、土田等は死前期の結核患者に「ツ」反応を行ない、剖検時に局所反応を検査しているのであつて、研究対象の関係から、反応性が減弱したアレルギー状態における所見が主になつている。

そこで著者は、反応性が減弱していない肺結核患者の「ツ」反応を臨床的に測定し、同時にその組織学的、細胞学的検査を行なつて、両者を比較研究した。更に組織培養法を用いて「ツ」過敏性を検討し、「ツ」反応の臨床的及び組織学的所見との関連性を追求した。

研究方法並びに研究材料

1) 検索対象

国立北海道第一療養所において、肺切除術を実施した男子25名、女子7名計32名の肺結核患者で、年齢分布は20歳以下7名、21~30歳12名、31~40歳11名、40歳以上2名である。発病より手術までの経過年数は2年以下9名、2~4年10名、4年以上13名。又術前化学療法の間は2年以下12名、2~4年13名、4年以上7名であつた。喀痰中結核菌塗抹、或いは培養陽性のもの10名、陰性22名、赤沈値は男子1時間10mm以下、女子は15mm以下を正常として、正常22名、促進10名であつた。「レ」線学的病型分類は、肺切除術の適応症例であるから大部分は慢性の中等症である。すなわち病変の拡がりは中等症25名、軽症7名であり、病変の性状は、線維乾酪型25名、滲潤乾酪型7名であつた。又「レ」線所見上明らかに空洞を有するもの23名、空洞不明瞭のもの9名であつた。

2) 抗原

a) 皮膚「ツ」反応抗原：伝染病研究所製ソートン「ツ」の200倍生理食塩水稀釈液0.1mlを用いた。

b) 組織培養実験の抗原：非加熱ソートン「ツ」から

とつた「ツ」蛋白を用い、これは小林²⁾の使用したものと同一サンプルである。

3) 組織培養手技

患者の正中静脈よりとつた血液 1 ml につき 0.4 mg の割合にヘパリンを加え、スピッツグラスにとり、4°C、3000 r.p.m、10分間遠心沈澱を行ない、上清を第2のスピッツグラスにうつし、同様に遠沈、更にその上清を第3のスピッツグラスにうつし同じ様に今一度遠沈を行ない、得た血漿を 8°C に保存する。次に、第1のスピッツグラス沈渣に Tyrode 液 6 ml を加え、1500 r.p.m、5分間遠沈を行ない、上清を捨て、沈渣に更に 6 ml の Tyrode 液を加え、同様の遠沈を行ない細胞を集める。

次に、ヴィダール試験管 5 本に、細胞 0.3 ml、及び先に得られた血漿 0.5 ml を加え、更に抗原として、夫々の試験管に、0.01% 又は、1% 「ツ」蛋白、及び対照として Tyrode 液各 0.2 ml を加える。この細胞、血漿、抗原の 3 者、計 1 ml の 5 本の試験管を master tube として、これを 1 分間 300~400 回よく震盪し、更に毛細管ピペットで、静かにしかも充分に混和して細胞を完全に分散させ、次いで内径 0.6 ± 0.1 mm、長さ 7 cm の毛細硝子管に、その 2/3 まで毛細管現象を利用して、これを吸い上げ、他端はガスバーナーで焼いて封ずる。こうして 1 本の master tube から各々 10~12 本の毛細硝子管を作つた。この毛細硝子管の各群を更に 1500 r.p.m、2 分間 4°C で遠沈を行なつた。遠沈後鏡検して管壁に白血球が附着していないか、又細胞及び血漿の境界が、きれいに分割されているかどうかをたしかめ、37°C の孵卵器に 16 時間、垂直に立てておき、翌朝これを鏡検した。以上の過程を通じて、用いた硝子器具はすべて予め乾燥滅菌したものを用い、雑菌の侵入をふせいだ。

4) 培養成績の判定

10~12 本の毛細硝子管を、1 枚のスライドグラスに静かに糊ではりつけ、接眼鏡に測微計を入れて、白血球遊走距離を測定した。遊走距離は、細胞及び血漿の境界から、遊走した白血球の最遠距離までをとつた。次に抗原を加えた夫々の群について白血球遊走距離の平均値を求め、これを Tyrode 液のみを加えた対照群の遊走距離の平均値で除し、得た値を 100 倍して Cytotoxic Index (以下 C.I. と略する) として表現した。抗原の添加により白血球遊走が障害せられ、遊走距離が短縮する場合は C.I. は逆に小さくなる。換言するば、C.I. が 100 より小さくなればなるほど、その抗原に対する影響を強く受けていることを示し、その抗原に対する細胞-血漿系の過敏性が大であると言えることが出来る。

5) 「ツ」皮内反応の組織学的検査

検査対象は、肺切除術実施予定の肺結核患者 44 名で、手術一定時間前に、背中の皮切予定部位に 2000 倍「ツ」0.1 ml を皮内注射し、手術直前にその反応を計測し、反応をしめた皮膚部分と、その周囲正常皮膚とを含めて 5~6 mm の幅に切除し、これを 10 倍ホルマリン液を用いて固定した。皮内注射は、手術開始予定時間の 48 時間前、24 時間前、12 時間前、6 時間前、3 時間前、1 時間前と分け、同一患者には、このうち任意の時間の 3 個を背部切開予定線に行なつた。従つて 44 名の対象患者から 132 個の「ツ」皮内反応の組織切片を得た。又各時間、同数の皮膚切片が得られるようにした。染色は、Hematoxylin-Eosin 染色及び Elastica-Van-Gieson 染色を用いた。

尚、皮膚切除については、予め患者の了解を得、その協力によつて、本研究は行なわれたもので、ここに記して謝意を表する。

成 績

1) 肺結核症と C.I.

肺切除術実施予定患者 32 例について、術前約 1 週間前に実験を行ない、表 1 の結果を得た。すなわち、0.01% 「ツ」蛋白群の平均値は 86.1 ± 2.72、1% 「ツ」蛋白群では 74.7 ± 2.85 となり、いずれも細胞遊走は抑制せられるが、明らかにその障害度は、抗原濃度が増加するにつれて、夫々大きくなるのがわかる。次に、これらの対象から得た成績を種々の観点から分析した。

表 1. 肺結核症と C.I.

症 例	年齢	性	ツベルクリン濃度		
			0.01%	1%	
No. 1	M.S	22	♀	91.9	91.5
2	T.A	34	♂	109.5	78.5
3	H.H	18	♂	78.2	72.3
4	T.K	36	♂	102.3	93.1
5	H.F	51	♂	84.3	76.6
6	H.S	35	♂	76.6	67.3
7	S.Y	28	♂	71.4	62.2
8	Y.N	29	♂	87.2	84.2
9	Y.Y	36	♂	86.2	85.7
10	N.S	19	♀	88.5	77.1
11	T.K	19	♂	77.4	72.7
12	B.K	51	♂	94.0	76.7
13	K.T	39	♂	86.2	85.7
14	Y.W	19	♂	61.3	47.7

症 例	年齢	性	ツベルクリン濃度		
			0.01%	1%	
15	N.I	23	♀	59.2	55.9
16	K.H	32	♂	82.8	119.0
17	I.D	24	♂	108.5	81.2
18	S.K	25	♂	81.2	51.2
19	M.K	33	♂	64.2	88.0
20	A.K	22	♀	88.0	89.4
21	M.T	25	♂	98.3	66.7
22	K.W	27	♂	74.5	89.1
23	N.I	20	♀	124.4	93.9
24	N.M	21	♀	127.2	71.7
25	T.H	22	♂	72.2	82.3
26	H.T	31	♂	98.9	81.8
27	S.S	20	♀	107.5	69.1
28	S.K	31	♂	74.6	62.0
29	Y.Y	31	♂	60.4	75.2
30	S.A	31	♂	88.8	69.2
31	T.N	24	♂	72.3	89.2
32	F.S	20	♂	86.6	40.5
平均 値				86.1 ± 2.72	74.7 ± 2.83

2) 年齢と C.I.

表2に示すごとく C.I. の平均値は「ツ」蛋白抗原濃度 0.01% でも、1% でも、いずれも年少者に較べて高齢者の C.I. が大きく、従つて「ツ」抗原に対する過敏性は小さくなる。

表2. 年齢と C.I. 平均値

年 齢	例数	0.01%	1%
~ 20	7	84.2±1.71	67.6±6.83
21 ~ 30	12	85.2±1.33	77.2±3.86
31 ~	13	85.1±1.02	79.8±2.39

3) 発病よりの期間と C.I.

表3. 発病よりの期間と C.I. 平均値

期 間	例数	0.01%	1%
0 ~ 2年	9	80.2±5.31	73.2±3.77
2 ~ 4年	10	83.8±6.12	75.8±4.04
4年~	13	84.3±4.16	80.1±2.11

表3に示すごとく、発病よりの経過年数の長いものの C.I. は、短いものの C.I. に較べて抗原濃度 0.01% でも、1% でもともに大きくなっている。

4) 化学療法期間と C.I.

表4に示すごとく、化学療法期間との関係は、表3の発病よりの期間の関係とは逆に化学療法期間の長い程 C.I. は小さく、従つて「ツ」過敏性は漸増している。この場合対象症例の大部分が発病後直ちに化学治療を開始しているから、この関係は化学療法期間と C.I. との関係を示すものと言ふことができる。

表4. 化学療法期間と C.I. 平均値

期 間	例数	0.01%	1%
0 ~ 2年	12	89.2±4.52	76.3±1.51
2 ~ 4年	13	84.6±5.43	74.7±4.50
4年~	7	84.3±6.12	69.6±5.91

化学療法期間2年未満の症例群と、4年以上の症例群の C.I. 平均値の間には、抗原濃度 0.01% でも、1% でもともに推計学的に5%の危険率で有意差が認められた。

5) 「ツ」皮内反応と C.I.

組織培養実験を行なうと同時に、手術予定日1週間前患者の前膊における「ツ」皮内反応を検した。発赤 20 mm 以下を +, 20~30 mm を ++, 発赤 30 mm 以上或いは水泡、硬結、二重発赤、壊死を形成したものを +++ として表5の結果を得た。

表5. 「ツ」皮膚反応と C.I. 平均値

「ツ」反応	例数	0.01%	1%
+	11	95.2±2.03	79.0±2.94
++	10	82.1±6.04	76.2±1.53
+++	11	80.3±4.48	75.3±3.71

すなわち「ツ」皮内反応の異なるもの程、C.I. が小さい。換言すれば、皮膚の「ツ」感受性の異なるものは、組織培養による「ツ」過敏性も又大である。両者はほぼ平行の関係にある。各群の C.I. の平均値を対比すると、抗原濃度 0.01% の場合には、+ 及び +++ の2群の間には推計学的に1%以下の危険率で有意差が認められ、+ 及び ++ の間には5%以下の危険率で有意差が認められた。抗原濃度1%の場合には、有意差は認められなかつた。

6) 排菌の有無と C.I.

表6のごとく、両群の C.I. を対比すると、排菌群の

表 6. 排菌の有無と C.I. 平均値

排 菌	例数	0.01%	1%
-	22	92.3±3.52	81.7±2.52
+	10	83.4±3.61	75.4±2.34

平均値は、非排菌群に較べ、抗原濃度 0.01% についても、1% についても、ともにはるかに小さく、従つて「ツ」過敏性は大である。

7) 赤沈と C.I.

赤沈の正常範囲として、男子 1 時間 10 mm 以下、女子 1 時間 15 mm 以下とすると、表 7 にしめすごとく、正常 22 例、促進 10 例であつた。C.I. の平均値は、抗原濃度 0.01%、及び 1% のいずれの場合にも、促進群が正常群に較べて、より小さく、従つて赤沈が促進すると、「ツ」過敏性が増大する。

表 7. 赤沈と C.I. 平均値

赤 沈	例数	0.01%	1%
正 常	22	93.5±4.34	82.0±3.45
促 進	10	78.6±2.13	73.8±2.84

なお抗原濃度 0.01%、1% のいずれの場合にも両群の間には推計学的に 1% 以下の危険率で有意差が認められる。

8) 胸部レントゲン所見と C.I.

術前の胸部レントゲン写真を検討し、病変の拡がりは N.T.A. の分類に従い、又病型分類は学研分類に従い、レントゲン所見上の病型病勢と、C.I. との関係を見た。

i) 病変の拡がり と C.I.

表 8. 病変の拡がり と C.I. 平均値

病変の 拡がり	例数	0.01%	1%
軽 度	7	91.2±1.83	83.8±2.15
中等度進展	25	87.1±3.13	75.9±2.67

表 8 のごとく、対象が肺切除術の適応症例であるから大部分が moderately advanced であり、一部 minimal で、far advanced は 1 例も含まれなかつた。軽度に較べ、中等度進展では 0.01% 及び 1% のいずれの場合にも C.I. は小さく、従つて肺病変の拡がりが大なる程「ツ」過敏性が増大する。

ii) 病変の性質と C.I.

対象症例の大部分は、学研分類の C 型すなわち線維乾酪型であり、僅かに一部 B 型すなわち浸潤乾酪型が含まれた。表 9 のごとく、両群の間には相関性がない様である。抗原濃度 1% の場合には、両群の平均値にかなりの差があるが、0.01% ではまったく差が認められなかつた。

表 9. 病変の性質と C.I. 平均値

病変の 性質	例数	0.01%	1%
浸潤乾酪型	7	84.2±3.24	77.5±3.36
線維乾酪型	25	84.4±1.73	71.4±2.84

iii) 空洞の有無と C.I.

表 10 のごとく両群の間には有意な相関は認めたいが、僅かに空洞のある症例では C.I. が小さく、従つて「ツ」過敏性が強いようである。このことは、病変の拡がりが大きい程 C.I. が小さく、「ツ」過敏性が大であるという表 8 の傾向に一致するもので、空洞のあるものはないものに比し一般に病変の拡がりも大であるからである。

表 10. 空洞の有無と C.I. 平均値

空 洞	例数	0.01%	1%
な し	9	86.3±4.13	84.9±3.87
あ り	23	85.1±1.22	82.2±2.61

9) 血液像と C.I.

術前の臨床的諸検査中、血液の機能的動態を示す血液像と、C.I. との関係を検討した。

i) 貧血の有無と C.I.

男子赤血球数 400 万以上、女子 350 万以上で、且つ Sahli 値 90% 以上を貧血なしとすると表 11 のごとく、

表 11. 貧血の有無と C.I. 平均値

貧 血	例数	0.01%	1%
な し	17	85.2±3.81	76.3±3.01
あ り	15	86.3±2.92	77.0±2.96

その C.I. は抗原濃度 0.01%、1% のいずれにおいても大差は認められないが、僅かに貧血のない症例群が、ともに小さく「ツ」過敏性が大であるように思われる。

ii) 白血球数と C.I.

表 12 にしめすごとく、白血球数 6000 以上を白血球増多とすると、C.I. は抗原濃度 0.01%、1% のいずれにお

いても大差は認められないが、僅かに白血球増多ありの症例群が、ともに小さく「ツ」過敏性が大であるように思われる。

表 12. 白血球数と C.I. 平均値

白血球増多	例数	0.01%	1%
なし	17	87.3±3.71	76.7±2.63
あり	15	85.2±3.23	74.9±3.16

iii) 淋巴细胞数と C.I.

淋巴细胞 40% 以上を淋巴细胞増多とすると、表 13 のごとく、やはり両群間に大差が認められない。

表 13. 淋巴细胞数と C.I. 平均値

淋巴细胞増多	例数	0.01%	1%
なし	22	83.4±3.52	75.3±2.97
あり	10	86.3±3.14	78.3±2.94

なしの症例群にやや「ツ」過敏性が強いように思われるが、有意差はなかつた。

iv) 単核球数と C.I.

単核球 5% 以上を単核球増多とすると、表 14 のごとく、増多なし 22 例、あり 10 例で、その C.I. は、抗原濃度 0.01% の場合には、なしの症例群の方が小さく、1% の場合には、逆に、ありの症例群の方が小さい。従つて両群の間には全く相関が認められなかつた。

表 14. 単核球数と C.I. 平均値

単核球増多	例数	0.01%	1%
なし	21	84.3±3.42	77.5±2.49
あり	11	89.2±2.13	74.6±4.31

以上のごとく血液像と C.I. との間には認むべき相関関係はなかつた。

10) 肺切除術による C.I. の変動

肺切除術実施患者 32 例について、術前 1 週間前、術後第 10、20 及び 30 病日の前後 4 回の組織培養を同一患者に行なつた結果は図 1 に示す通り術前の平均値は抗原濃度 0.01% では 86.1±2.72、1% では 74.7±2.83 であるが、術後第 10 病日ではその値が著しく増大して、0.01% では 94.1±2.22、1% で 88.9±2.65 といずれも 100 に近づき、従つて「ツ」過敏性は著減している。第 20 病日第 30 病日と、ややこの値は減少して、「ツ」過敏性をとりもどして行くように思われるが、第 30 病日でなほ

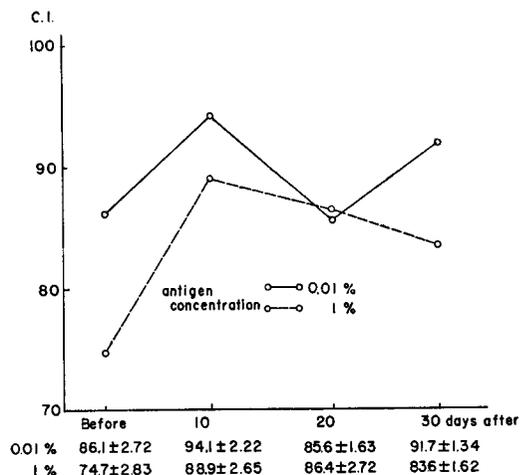


図 1. 肺切除術による C.I. の変動

0.01% で 91.7±1.34、1% で 83.6±1.62 と術前値よりもはるかに大きい。

11) 「ツ」反応の組織学的所見

i) 注射後 1 時間

ほとんど所見の認められないものが、かなりあつたが、大部分は瀰漫性に軽度の細胞浸潤を認め、その種類は大抵多型核白血球であつた。乳頭層及び網状層の上部の毛細管は軽度に拡張、充血した所見もみられた。浮腫や膠原線維の膨化は、ほとんど認められない。

ii) 注射後 3 時間

1 時間目の所見に較べ、やや病変程度が進行しているが、細胞浸潤が更に瀰漫性に増加し、特に多型核白血球の浸潤が目立つている。しかし単核球の浸潤の認められる例も少数存在した。浮腫や血管の拡張、充血も 1 時間目の所見に比し増加している。

iii) 注射後 6 時間

細胞浸潤は増加し、浮腫、膠原線維の膨化もあらわれ kapillary thrombosis としての血流停止の像がみられるようになる。滲出した細胞の種類は、主として多型核白血球及び単核球であるが、数においては、前者が尚はるかに優位である。しかし白血球浸潤と同程度の単核球浸潤をしめすものも認められた。

iv) 注射後 12 時間

血管反応、細胞浸潤、浮腫及び膠原線維の膨化は、更に増加し、又細胞は瀰漫性の浸潤から、やや毛細血管等を中心に集団化して来たような所見がみられる。滲出せる細胞は多型核白血球及び単核球であるが、その優位性は、いずれとも言い難く、ほとんど同程度の浸潤が認められた。

v) 注射後 24 時間

次に記載する 48 時間の所見に似ているが、細胞浸潤、浮腫、膠原線維の膨化は 48 時間後の所見に較べ弱い。滲出せる細胞は多型核白血球及び単核球が主であるが、数においては、前者に較べ後者が明らかに優位をしめすものが多く、ほとんど単核球ばかりで、多型核白血球の浸潤が僅かにしか認められないものがかなりあつた。しかし白血球の割合が、48 時間後に較べて多い。

vi) 注射後 48 時間

乳頭層に中等度、ないし高度の細胞浸潤あり、網状層下部にまで及ぶこともあつた。該部の毛細管は拡張、充血し、あるいは血流停止の像をしめし、毛細管周囲の浮腫も相当高度であつた。又細胞浸潤は初期の所見と異なり、毛細管、汗腺を中心として集団化し、従つてこの分布は、皮膚の毛細管分布に一致しているように思われる。滲出した細胞の大部分 (2/3 以上) は単核球で、多型核白血球は、僅かに瀰漫性に浸潤しているか、或はほとんど認められないものが可成りあつた。膠原線維は中等度ないし高度に膨化し、太く密になつている。

浮腫、細胞浸潤、膠原線維化、毛細管拡張等種々の反応病変の程度と、その時間的経過との関係を表 15 にしめた。

表 15. 反応病変程度と時間的経過

反応病変程度	1時間	3時間	6時間	12時間	24時間	48時間	計
卍	—	—	2	10	14	16	42
++	6	12	14	6	4	4	46
+	6	10	6	4	4	2	32
±	4	—	—	2	—	—	6
—	6	—	—	—	—	—	6
計	22	22	22	22	22	22	132

病変の程度としては、ほとんど所見の認められないものから、高度の反応をしめすものまでを 5 段階に分けた。1 時間では、所見の認められないものから、軽度の病変をしめすものが大部分であつたが、(++) 程度の、可成り強い反応を認めるものが 6 例あつた。病変程度は、時間の経過に従つて、1 時間から 24 時間まで次第に強くなつて行くが、24 時間と 48 時間とでは、病変はほぼ同程度であつた。

表 16、表 17 は細胞浸潤の時間的経過で、注射後、早期には多型核白血球が優位する滲出がおこるが、これは比較的速やかに減退し、12 時間を過ぎる頃より次第に単核球の反応が著明となつている。24 時間及び 48 時間

表 16. 多型核白血球浸潤と時間的経過

多型核白血球浸潤	1時間	3時間	6時間	12時間	24時間	48時間	計
卍	2	8	8	6	—	—	24
++	6	6	6	6	4	2	30
+	4	6	6	4	4	2	26
±	4	2	2	6	4	4	22
—	6	—	—	—	10	14	30
計	22	22	22	22	22	22	132

表 17. 単核球浸潤と時間的経過

単核球浸潤	1時間	3時間	6時間	12時間	24時間	48時間	計
卍	—	—	2	4	12	14	32
++	2	—	4	6	6	6	24
+	2	8	8	6	4	2	30
±	12	10	8	6	—	—	36
—	6	4	—	—	—	—	10
計	22	22	22	22	22	22	132

では、完全に単核球が優位をしめるが、中には 24 時間ないし 48 時間でなお多型核白血球が優位をしめる例もあつた。24 時間と 48 時間の所見の間には、大差は認められなかつた。

12) 「ツ」反の組織学的所見と、組織培養法による「ツ」過敏性との関係

「ツ」皮内反応の病理組織学的所見は、時間の経過に従つて、次第に進行して、その極期は注射後 48 時間にあることは明らかであるが、このうち少数ながら比較的早期に、すなわち注射後 6 時間以内に、反応の強く認められる症例がある事を確かめた。

時間的経過にしたがつて滲出する多型核白血球及び単核球の消長を見ると、大部分が初期すなわち注射後 6 時間頃までは多型核白血球が優位する滲出が起るが、これは比較的速かに減退し、12 時間を過ぎる頃より単核球の反応が著明となる。両者の関係が逆転する時間は、注射後 12 時間と 24 時間の間である。これが一般的な型であり、これを便宜上 A 型とよんでおく。次に上述した組織反応の比較的早期に強くあらわれた例では多型核白血球が優位をしめる時間が極めて短かく、注射後 3 時間程で早くも単核球が優勢となる。

本研究では 44 例中 8 例が、このような型をしめた。便宜上これを C 型とよぶ。次に A 及び C 型両者の中間の組織反応をしめすものでは多型核白血球と単核球の

関係が逆転する時期が注射後6時間と12時間との間にある。本研究では44例中10例がこのような型をしめした。これをB型とよんでおく。A, B, C型それぞれの症例について前記同様にして末梢血液の組織培養を行ない、そのCytotoxic Index (C.I.)の平均値から「ツ」過敏性を比較した成績が表18である。

表18. 背部「ツ」反応の組織所見とC.I. (I)

組織所見	例数	0.01%	1%
A - 型 (遅延型)	26	91.1±3.23	84.3±3.22
B - 型 (中間型)	10	86.3±4.24	77.0±3.08
C - 型 (即時型)	8	82.1±3.72	73.6±3.78

「ツ」蛋白濃度0.01%では、A型のC.I.の平均値は91.1±3.23、C型では82.1±3.72となり、又抗原濃度1%ではA型84.3±3.22、C型73.6±3.78であり、ともにA型及びC型の間には、推計学的に5%以下の危険率で有意差が認められる。A型とB型、及びB型とC型との間には推計学的に有意差は認められないが、早期に組織反応を強くあらわすものは明らかに「ツ」過敏性が大であると言ひ得る。逆に反応のおそく発現する所謂遅延型の反応を呈するものは「ツ」過敏性が小である。

表19. 背部「ツ」反応の組織所見とC.I. (II)

組織所見	例数	0.01%	1%
強 度	20	82.1±2.72	71.2±2.69
中 等 度	12	85.3±1.38	75.5±2.99
軽 度	12	86.8±3.24	80.8±3.28

次に、全経過時間を通じてしめされた組織反応の強さを、その程度によつて、強度、中等度、軽度と3群に大別し、それぞれ各群の「ツ」過敏性を組織培養によつて比較した。表19にしめすごとく、組織学的変化の大きなものは「ツ」蛋白抗原に対する過敏性も又大であると言ひ出よう。

総括並びに考按

1) 組織培養方法について

組織培養による「ツ」過敏性の研究者で、Cytotoxic Index という表現を同様の意味に用いているのは Favour^{3,22-25)}, Moen²⁵⁾, Heilman²⁷⁻²⁹⁾, Citron⁷⁾ 等がある。しかしその用いた組織及び培養法は種々様々である。すなわち Favour その他等の白血球を除いては、組

織片のままを培養し、その培養時増殖の程度、遊出の程度は主として増殖帯、遊出帯の面積で測定している。したがつて同一条件のもとで一定の成績を出すまでに相当の熟練を要する。しかも Seibert^{30,31)} が指摘しているごとく、一般に培養組織の「ツ」感受性は比較的弱いものであるので、その実験条件には充分の吟味と慎重な検討が必要であろう。著者の行なつた組織培養法は O'Neill & Favour⁶⁾ 等の方法を若干改良したものであるが、しかし尚検討を要する2~3の問題が内蔵されているように思われる。まず、ヘパリン濃度についてであるが、著者は血液1mlにつき、0.4mgのかなり高濃度を使用しているが、ヘパリン濃度が低い場合、培養経過中にフィブリン網が、細胞-血漿境界面に形成され、白血球遊走の精確な測定が困難となる。しかし又あまりヘパリン濃度が高い場合は、頻回の遠心操作とともに細胞障害性に妨ぐ可能性が考えられる。著者はこれらの点を検討し、可及的最小のヘパリン濃度を用い、遠心操作にも考慮をはらつた。次に毛細硝子管の問題がある。著者は毛細硝子管の内径は出来るかぎり均一にするように努力し、さらに内腔は可能なかぎり清浄にしておく様に心掛けた。

2) 結核症と組織培養から見た「ツ」感受性について

肺結核症の臨床的症候と組織培養による「ツ」過敏性との間の相関関係について、著者の研究では、その対象が肺切除術の適応症例群であり、したがつて慢性、中等症が大部分であるため著明な相関関係をたしかめがたかつたが、そのいくつかについては少数例ながら推計学的に明らかな関係が認められ、又他の症候についても、一定の傾向をしめすものが多く、組織培養による「ツ」過敏性は、たしかに肺結核症の臨床的症候と相関関係を有するものと思う。すなわち肺結核症において「ツ」抗原に対する細胞ないし体液性因子の過敏性は年少者が高齢者に較べて大であり、又発病よりの経過年数の短いものほど、長いものに較べて大である。逆に化学療法期間の長いもの程「ツ」過敏性が大である。「ツ」皮膚反応との関係では、皮膚反応の強さに平行して「ツ」過敏性も増大する。皮膚反応による「ツ」アレルギーと組織培養による「ツ」アレルギーの間にはいろいろな差異が存在するであろうが、in vitro における「ツ」抗原の細胞に対する毒性は、生体における「ツ」反饋反応の一部を形成しているものと考えられる。次に、著者の成績では赤沈値の促進した開放性肺結核患者の「ツ」過敏性は赤沈値正常の非排菌群よりも大であり、更に胸部レントゲン所見上明らかな空洞を有し、病変の拡がりの大なるものほど「ツ」過敏性も大であつた。Citron⁷⁾ は異なつた組織培養法を用いて著者と同様な成績を報告している。

3) 肺切除術と「ツ」感受性について

次に肺切除術を行なった後の組織培養による「ツ」過敏性は術前に較べ減弱する。特に術後10日目ではこの傾向が著明であり、術後30日目でも尚術前に較べ低下していた。これは肺切除術による侵襲によつて抗体産生の能力が低下しているためと考えられる。或は又、主病巣剔出によつて、抗体産出の場を失なつたためとも考えられる。これには術後さらに長期間の経過を観察しなければならぬと思われるが、組織培養による「ツ」過敏性は、たしかに肺結核症の臨床的症候と相関がある。この事実は「ツ」アレルギーの成立が、生体内において決して静的なものではなく、種々の条件によつて抗体産生能が消長するにつれて変化する動的な機構によるものであると思われる。

4) 「ツ」反応の組織像更にこれと「ツ」感受性について

人体皮膚、ことに反応性を充分に保持する状態において「ツ」反応を組織学的に追求した研究はきわめて乏しい。

今回の成績によれば、組織反応及びその時間的経過は、従来他の研究者によつて行なわれた動物皮膚についての成績にはほぼ一致している。すなわち注射後6時間頃までは、多型核白血球の滲出が優位をしめるが、これは比較的速やかに減退し、12時間をすぎると単核球の浸潤が著明となり、両者の関係は12時間から24時間の間に逆転し、爾後24時間及び48時間では、完全に単核球が優勢となる。Dienes & Mallory¹¹⁾は単核球性反応は「ツ」型アレルギーに特異的なものであり、多核球性反応はArthus型アレルギーに特異的なものであると記述しているが「ツ」型アレルギーは初期が多核球性反応であり後期には単核球性反応をしめすというRich³²⁾を始めとするHolley³³⁾、Follis, Jr.³⁴⁾さらに我国では小野江、仙場³⁵⁾らの報告のごとく単核球性反応は「ツ」型アレルギーに特異的とはいえないようであるが総体的には単核球性性格が強いということは一般に認められている。

この様に「ツ」皮内反応の病理組織学的所見は、時間の経過とともに進行し、注射後48時間には極期をなしているが、本研究では、44名中8名に注射後6時間以内の早期に強い組織反応をしめし、白血球優位の期間は極めて短かく、注射後3時間程で、すでに単核球が優位を獲得することが認められた。従来「ツ」型アレルギー反応の最も特徴と考えられた遅発、遷延性の反応の中に、かかる迅速、即時的反応をしめす例が認められた事は、最近森川³⁶⁻³⁸⁾らが述べるように「ツ」アレルギーには遅延性性格と、即時性性格が合併しており「ツ」型アレルギーはArthus型アレルギーと本質的には、まったく

異なる性質のものでないという考え方に一致するものである。しかもかかる即時性反応を呈する症例について、組織培養によつて、そのC.I.との関連性を検討すると、遅延反応を呈する症例に較べて「ツ」過敏性が明らかに大であり、従つて、遅延性反応を呈するものに較べて、抗体産生能がより大であると言ひ得る。

又「ツ」過敏性の異なるもの程、全時間的経過を通じて示す反応の強さも大であるように思われる。つまり遅延性性格と即時性性格との差には抗体の量的差異しか認められないものと言うことが出来よう。

5) 本実験で調べた「ツ」感受性について

著者は今回一般には余り知られていない毛細管内白血球遊走距離の測定と言う方法で、「ツ」感受性を見たわけであるが、これが果して生体の真の「ツ」感受性であるかどうかと言う疑問が生じて来る。そこでこの方法でつかまえた「ツ」感受性とはいかなるものかを考えて見ると、先ず第1に空洞その他比較的大病巣を有する患者にこの感受性がより強く認められるし、又この感受性は皮膚の「ツ」反応の強さとは並行的関係がある。又若年者には老年者より感受性が強い。更に「ツ」による細胞反応が強い例ではたしかに感受性が強い。このような成績を通覧すると、著者の測定した「ツ」感受性は「ツ」皮膚反応抗体とほぼ一致するものと考えてさしつかえないようである。しかもこの感受性を来すものは病巣或いは病原菌に由来するらしいことは肺切除術前後の成績から推定することが出来る。すなわち、切除後10日目、この感受性は著しく低下した。これについては、手術侵襲と言う激しい非特異的刺戟が、感受性低下に作用していることは間違いないが、それだけで全部を説明するのは不都合であろう。例えばその10日以降には術前値に近よるのであるが、術前値よりはたしかに低い値が持続されるし、又決定的な根拠は重症者に感受性が強く、軽症者には弱いことである。このような事実を見ると、抗体形成の基盤となるべき主病巣の剔除と言うことが、感受性の低下に影響していることはどうしても肯定しなくてはならない。

さてここまで考えると、著者の測定した感受性は抗「ツ」抗体に相当するものと考えてよいであろう。少くとも「ツ」皮膚反応抗体とはほぼ一致するものとして差支えない。従つて、非特異刺戟によつて容易に左右せられる——即ち安定性のうすい皮膚「ツ」反応よりも、より忠実に生体の「ツ」感受性を測定する方法として、著者の実験手技は臨床的応用も考えられるかと思われる。

次にこの面から「ツ」反応の遅延性性格について考按を加えてみたい。「ツ」反応は、従来遅延性アレルギー

反応の代表者と見なされて来ている。つまり反応原注射後反応極期に達する迄の時間が、Arthus 現象を代表とする即時型のアレルギー反応よりもずっと長いことが特徴である。しかし近時、即時型の「ツ」反応も認めらるるという報告が多くなっている。しかしその原因についての詳細な考えはまだ見られず、その多くは、原因の第1として同一場所における反復注射なる問題をとりあげており、抗体の面からの考察はされていない。只前述の如く、森川等³⁷⁾は「ツ」反応に2種の性格があること、即ちその1つは本来の遅延性性格、更にもう1つは即時型性格である。従つて即時型「ツ」反応は後者の性格が強く表現された場合である。

この問題に関連して著者は抗体の量と言うことも考えに入れる必要があることを痛感した。即ち、結核患者背部の「ツ」反応が即時型性格を示す例では、著者の方法による「ツ」感受性も又特に強い例であつたことは白血球の有する「ツ」抗体が、遅延性性格を示した患者のそれよりも、より多量に存在した事を物語つている。つまり抗体量が多い場合には即時型性格が強調されると言うことである。且つて、天野³⁹⁾は異種蛋白感作で抗体量の少い場合は遅延性反応となると言い、又 Gell & Hinde⁴⁰⁾は遅延性反応は不完全な免疫状態であるといひ、更に大原⁴¹⁾もこの考えを実験的に推論しているし、Laurence その他⁴²⁾は即時型アレルギーの完成する前の時期に現われる反応性であると述べている。之らの何れもが著者の今回の成績を裏付ける根拠になつてゐると考へるのである。

従つて「ツ」抗体とは、病巣或いは病原菌が抗原となつて、生体を感作して生じたものであることは明瞭である。又その抗原性物質としては、先ず菌体成分が考えられ、中でも菌体蛋白質が重要であるし、更にこれと結合しているか、或いは復合しているリポイド、或いは多糖類が蛋白質の本来の抗原性を修飾しているものであらうと考へられる。

このような方法が今後の臨床的応用に発展し、更には「ツ」アレルギーの本質の理解から結核アレルギー、更には結核免疫の解明に役立つ可能性は深いと考へられる。その意味で今回の実験は興味ある成績を残したと信ずるものである。

結 論

硝子製毛細管内における白血球の培養時に遊走した距離から該白血球のツベルクリン感受性(以下単に感受性と略する)を測定し、これと結核患者の臨床症状との関係を追求し、更に人体ツベルクリン皮膚反応の組織学的

検査成績との関連性を求め、次のような結果を得た。

- 1) 「ツ」感受性は年少者が高く、年齢に従つて減弱する。
- 2) 発病よりの経過年数の長いものは感受性が低い。しかし化学療法を受けた期間の長い程感受性は高い。
- 3) 比較的重症例では感受性が高い。
- 4) 肺切除術後10日目で感受性は著しく低下し、その後やや恢復するが術前より遙かに減弱している。
- 5) この感受性は「ツ」皮膚反応の強さと肉眼的にも又顕微鏡的にも並行関係を有する。
- 6) 人体皮膚における「ツ」反応の組織学的所見は動物皮膚における所見と一致する。
- 7) 少数例に即時型反応を呈するものが見られたが、この患者の「ツ」感受性は特に高い。

以上の成績からこの方法の臨床的応用を強調し、更に「ツ」アレルギーの本質についての考按を行なつた。

稿を終るに臨み御校閲を賜つた北大第一外科三上二郎教授に満腔の謝意を表すると共に、御助言御指導を戴いた国立北海道第一療養所所長原岡壬吉先生、医務課長後町登美男先生に深謝し、又組織学的検査、組織培養手技について御指導を賜つた北大結核研究所病理部森川教授に衷心より感謝致します。

文 献

- 1) Rich, A. R. & Lewis, M. R.: Bull. Johns Hopkins Hosp., **50**, 115 (1932).
- 2) Aronson, J. D.: J. Immunol., **25**, 1, (1933).
- 3) Favour, C. B.: Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., **65**, 269 (1947).
- 4) Waksman, B. H.: Amer. Rev. Tuberc., **68**, 746 (1953).
- 5) Waksman, B. H.: J. Immunol., **70**, 331 (1953).
- 6) O'Neill, E. F. & Favour, C. B.: Amer. Rev. Tuberc., **72**, 577 (1955).
- 7) Citron, K. M.: Tubercle, **39**, 65 (1958).
- 8) Klingsmüller: Wien. Klin. Wsch., **40**, 778 (1903).
- 9) Blumenberg, W.: Beitr. Klin. Tub., **61**, 509 (1925).
- 10) Nikolajsw, N. M.: Virch. Arch., **264**, 458 (1927).
- 11) Dienes & Mallory: Am. J. Path., **8**, 689 (1932).
- 12) 岡 治道: 日本医事新報, **836**, 3229 (1938).
- 13) 土田輝子: 結核, **16**, 5, 682 (1938).
- 14) 土田輝子: 結核, **18**, 12, 1143 (1940).
- 15) 武藤敏文: 結核, **30**, 10, **30**, 11, 615, **30**, 12, 691.
- 16) 日置治男, 小方健次: 総合医学, **10**, 12, 854 (1953).
- 17) 日置治男, 小方健次: 結核診療, **7**, 6, 350 (1954).
- 18) 日置治男, 小方健次: 呼吸器診療, **11**, 5, 363 (1956).

- 19) 日置治男, 小方健次: 胸部疾患, **1**, 8, 347 (1957).
- 20) 日置治男: 胸部疾患, **2**, 7, 30, 4 (1958).
- 21) 小林豊司: 結核の研究, **11**, 109 (1959).
- 22) Favour, C. B.: *Ibid.*, **70**, 369 (1949).
- 23) Favour, C. B., Harrison, B. A. & Osgood, C. K.: *Ibid.*, **73**, 122, (1950).
- 24) Favour, C. B., Fremont-Smith, P. & Miller, J. M.: *Amer. Rev. Tuberc.*, **60**, 212, (1249).
- 25) Miller, J. M., Favour, B. A. & Umbarger, M. A.: *Ibid.*, **71**, 287 (1949).
- 26) Moen, J. K. & Swift, H. F.: *J. Exper. Med.*, **64**, 339 (1936).
- 27) Heilman, D. H., Feldman, W. H. & Mann, F. C.: *Amer. Rev. Tuberc.*, **50**, 344 (1944).
- 28) Heilman, D. H. & Seibert, F. B.: *Ibid.*, **53**, 71 (1946).
- 29) Heilman, D. H. & Feldman, W. H.: *Ibid.*, **54**, 312 (1946).
- 30) Seibert, F. B.: *Amer. Rev. Tuberc.*, **47**, 66 (1943).
- 31) Seibert, F. B. & Nelson, J. W.: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, **49**, 77 (1942).
- 32) Rich, A. R.: *Pathogenesis of Tuberculosis*, 11nd Ed., C. C. Thomas, N. Y. (1951).
- 33) Holley, S. W.: *Amer. J. Path.*, **11**, 937 (1935).
- 34) Follis, R. H. Jr.: *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, **66**, 245 (1940).
- 35) 小野江, 仙場: 札医紀要, **2**, 133 (1951).
- 36) 森川和雄: 結核の研究, **3**, 1 (1956).
- 37) Morikawa, K., Okuyama, H. & Tokita, H.: *Jap. J. Tuberc.*, **5**, 71 (1957).
- 38) 奥山, 森川: 結核の研究, **3**, 99 (1955).
- 39) 天野: 日病会誌, **43**, 28 (1944).
- 40) Gell, P. G. H. & Hinde, I. T.: *Int. Arch. Allergy*, **5**, 23 (1954).
- 41) 大原 達: 第12回日本医学会総会シンポジウムに発表, 東京 (1959).
- 42) Laurence, H. S.: *Am. J. Med.*, **20**, 428 (1956).