

発泡膏貼布による滲出液の研究

第1編 細胞学的研究

岡山大学医学部平木内科（主任：平木 潔 教授）

黒瀬 健吉

〔昭和49年3月8日受稿〕

目 次

第1章 緒 言	第1節 発泡膏貼布より発泡迄の時間
第2章 実験材料並びに実験方法	第2節 発泡液量
第1節 実験材料	第3節 細胞数
第2節 実験方法	第4節 細胞分類
第1項 採液方法	第5節 好中球の平均核数
第2項 観察方法	第4章 総括並びに考案
第3章 実験成績	第5章 結 語

第1章 緒 言

白血球の機能については、1828年 Dutrochet¹⁾により血管から炎症面に白血球が通過することを認めて以来、多くの研究者によって多数の報告がなされてきている。我々の教室においても教室考案の骨髓体外組織培養法を用いて、白血球の遊走能、貪喰能、生体染色能等について詳細な研究がなされてきている。

白血球機能の研究方法として、更に Rebeck²⁾らは実験的に容易に観察しうる方法として皮膚面に作った小損傷に滲出してくる白血球を利用する方法を発表し、本法を用いて Perillie³⁾は白血病患者の細胞反応が正常人と異なることを報告している。一方皮膚面における滲出液中の白血球を観察する方法として発泡膏を用いての報告は、Dionisi⁴⁾によれば Litten⁵⁾及び Neumann⁶⁾が白血病患者について報告し、更に岡野⁷⁾及び宮尾⁸⁾の報告もみられる。教室においても咲川⁹⁾はカンタリス発泡膏を用いて実験し、急性白血病患者においては細胞反応が正常に比し著しく低下することを報告しているが、肺結核、肝炎、癌、腎炎等でこれを検討した報告はない。そこで私は白血病患者を除くこれら種々の疾患患者に、発泡膏を利用した滲出液の細胞学的研究を行い、生体にお

ける細胞反応について若干の知見を得たので報告する。

第2章 実験材料並びに実験方法

第1節 実験材料

実験材料として入院中の肺結核18例、急性及び慢性肝炎14例、癌8例、急性及び慢性腎炎8例、レーノー氏病、蕁麻疹各1例の総計50例を用いた。癌患者の原発巣による分類では胃癌5例の他、肺、肝、食道に原発するものが各々1例宛である。尚これらの症例はすべて他のアレルギー性疾患を有しないものを用いた。また、これら患者を年齢によって29才以下の青年、30～59才の壮年、60才以上の老年の3群に分け、加齢による滲出液の変動についても観察を行った。

第2節 実験方法

第1項 採液方法

被検部位は前腕屈側とし1cm²当たり約20mgの発泡膏 (Unguentum Vesicans) を均等に塗布した1.0cm平方の紙一枚及び1.5cm平方の紙3～4枚を3cm以上の間隔において貼布し、絆創膏で皮膚面に密着する様に固定した。

第2項 観察方法

発泡までの時間は前記1cm平方の膏薬紙下にお

る発泡の観察によって測定した。発泡液は炎症性刺激としての発泡膏貼布後、ほぼ全例に発泡形成が完成すると予測される24時間目にツベルクリン注射器を用いて採取し、採取直後に観察に供した。発泡液量は全貼布面より得られたものを1 cm²当りに換算した。細胞数は白血球計算用のメランジュール及び計算盤を用いて算定し、細胞分類には発泡液を低速遠沈し、沈渣の塗抹標本を作成後 May Giemsa 染色を行った。また分類された好中球については平均核数を算定した。

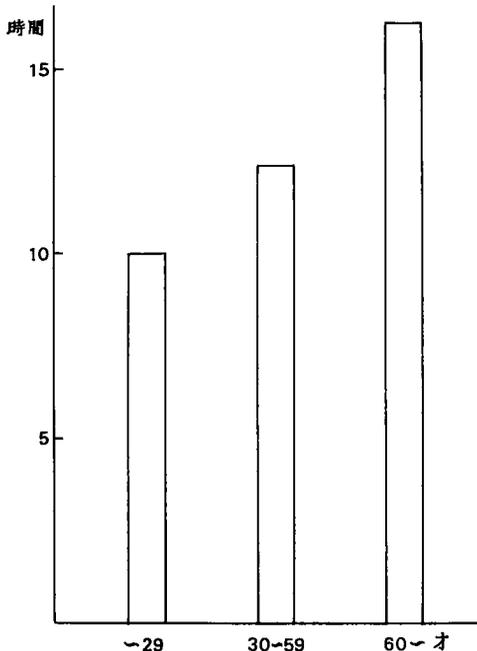
第3章 実験成績

第1節 発泡膏貼布より発泡までの時間

全例における発泡までに要する時間は最低6時間より最高23時間の間にあり、平均13.3時間であった。但し、48時間後も全く発泡を認めなかった70才の肝癌患者1例は観察より除外した。

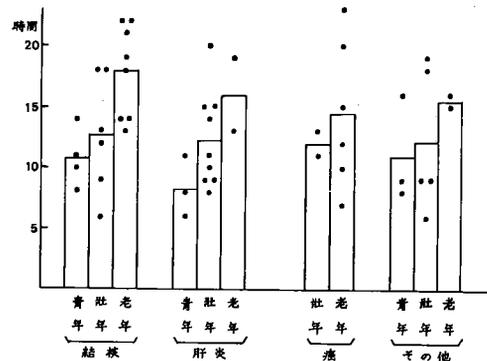
これを疾患別を無視して単に年齢別によるのみに比較すると、青年群10例では最低6時間より最高16時間で平均10.1時間であり、壮年群22例では最低6時間より最高20時間で平均12.4時間であり、老年群18例では最低7時間より最高23時間で平均16.3時間と、加齢によって発泡に要する時間が延長する傾向が認められた。(図1及び表)

図1. 発泡膏貼布より発泡までの時間



つぎに疾患別を加味して比較してみても、やはり青年群、壮年群、老年群と時間延長の傾向がみられるが、特に老年者肺結核で延長傾向が著明であった。又、肝炎の青年群では短縮の傾向がみられた。(図2及び表)

図2. 年齢及び疾患別の発泡に要する時間の比較



第2節 発泡液量

発泡膏貼布後24時間で生じた1 cm²当りの発泡液量は最低0.02ccより最高0.35ccの間にあり、平均0.09ccであった。

疾患別を無視して年齢別に発泡液量を比較すると、青年群では最低0.04cc最高0.35ccで平均0.12ccであり、壮年群では最低0.03cc最高0.18ccで平均0.09ccであり、老年者群では最低0.02cc最高0.16ccで平均0.08ccで、最低最高発泡液量共に加齢に従って減少し、平均液量も加齢とともに減少することが認められた。

疾患別に年齢を加味して比較すると、肺結核で発泡液量が各年齢を通じて少い傾向がみられ、肝炎の青年群では症例は少いが増加する傾向が認められた。

(図3及び表)

第3節 細胞数

発泡液1 mm³中の細胞数は最低100より最高9700で平均2410であった。

年齢別に細胞数を比較すると青年群では最低200、最高4550で平均1820、壮年群では最低200、最高9700で平均2500、老年群では最低100、最高6300で平均2660と、加齢によって増加する様に見えるが、症例毎に検討すると細胞数のばらつきが大きく、年齢別による細胞数には一定の傾向はないものと思われた。また疾患別を加味して比較しても一定の傾向はみられなかった。(図4及び表)

図3. 発泡液量

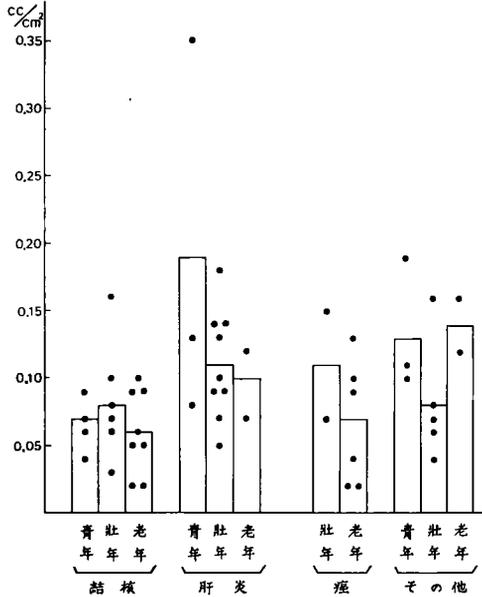
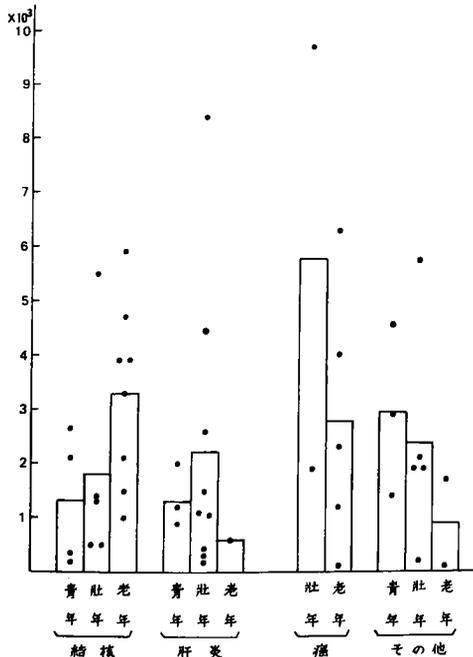


図4. 細胞数

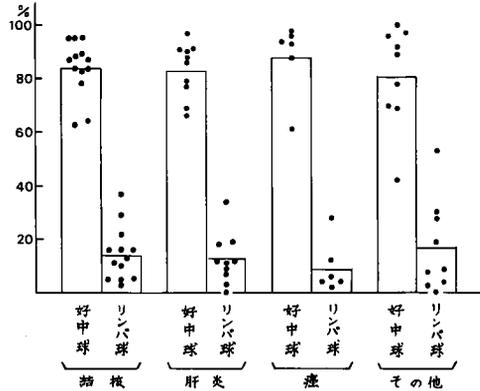


第4節 細胞分類

年齢及び疾患別を度外して行った全例における細胞分類の平均では、好中球84%、リンパ球14%、単球及び好酸球が各々約1%で、好塩基球は認められなかった。また、白血球以外に38例中18例において少数の上皮細胞が認められた。

ついで年齢別、疾患別に細胞の種類を比較したが、年齢別及び疾患別による特徴的な傾向はみられなかった。(図5及び表)

図5. 細胞分類



第5節 好中球の平均核数

好中球の平均核数は最低2.13, 最高3.45で平均2.75であり、年齢別、疾患別には肺結核でやや少い傾向がみられたが、推計学的には有意の差が認められなかった。(図6及び表)。

図6. 好中球の平均核数

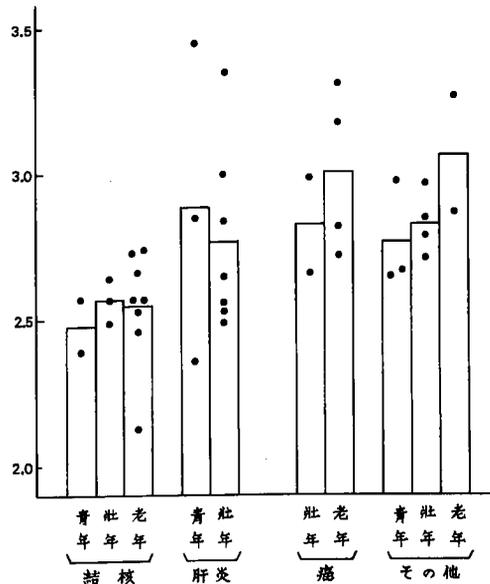


表 発泡膏貼布より発泡開始迄の時間、貼布後24時間目の発泡液量、発泡液中の細胞数、細胞組成及び好中球平均核数。

群	例	性	年令	疾患	発泡時間	発泡液量 (cc/cm ²)	細胞数 (/mm ³)	細胞組成				好中球 平均核数
								N	E	L	M	
青年群	1	♂	19	肺結核	8	0.04	200	—	—	—	—	—
	2	♂	25	肺結核	14	0.06	2100	84	0	16	0	2.39
	3	♀	27	肺結核	11	0.07	350	—	—	—	—	—
	4	♀	24	肺結核	10	0.09	2650	63	0	37	0	2.57
	5	♂	27	肝炎	11	0.13	2000	91	0	9	0	2.36
	6	♀	27	肝炎	8	0.08	800	97	0	0	3	3.45
	7	♀	29	肝炎	6	0.35	1200	77	4	19	0	2.85
	8	♀	18	腎炎	9	0.10	2900	89	1	9	1	2.67
	9	♀	19	蕁麻疹	8	0.11	4550	69	1	28	2	2.65
	10	♀	20	レーノー氏	16	0.19	1400	92	0	8	0	2.98
平均			24		10.1	0.12	1820	83	1	16	1	2.74
壮年群	11	♂	59	肺結核	9	0.03	—	—	—	—	—	—
	12	♂	44	肺結核	12	0.08	5500	95	0	5	0	2.57
	13	♀	57	肺結核	13	0.10	1300	95	0	5	0	2.49
	14	♀	48	肺結核	18	0.07	500	—	—	—	—	—
	15	♀	30	肺結核	18	0.06	1350	84	0	16	0	2.64
	16	♂	35	肺結核	6	0.16	500	—	—	—	—	—
	17	♂	52	肝炎	15	0.05	1500	88	0	12	0	2.56
	18	♀	47	肝炎	15	0.10	200	—	—	—	—	—
	19	♂	36	肝炎	9	0.14	300	79	0	18	3	2.65
	20	♂	36	肝炎	14	0.07	1100	90	2	7	1	2.84
	21	♂	57	肝炎	9	0.09	2600	69	16	12	3	2.49
	22	♀	31	肝炎	20	0.09	400	—	—	—	—	—
	23	♂	44	肝炎	10	0.18	4450	91	0	3	6	3.35
	24	♂	56	肝炎	8	0.13	8400	66	0	34	0	2.53
25	♀	43	肝炎	11	0.14	1050	86	1	11	2	3.00	
26	♂	51	胃癌	13	0.07	1900	96	0	4	0	2.66	
27	♂	59	胃癌	11	0.15	9700	98	0	2	0	2.99	
28	♂	48	腎炎	9	0.08	200	—	—	—	—	—	
29	♀	51	腎炎	19	0.06	5750	96	0	4	0	2.85	
30	♀	55	腎炎	18	0.04	1900	100	0	0	0	2.97	
31	♂	50	腎炎	9	0.07	2100	42	0	53	5	2.79	
32	♂	40	腎炎	6	0.16	1900	97	0	3	0	2.71	
平均			49		12.4	0.09	2500	86	1	12	1	2.76
老年群	33	♂	63	肺結核	14	0.06	5900	87	10	3	0	2.53
	34	♂	63	肺結核	13	0.05	3900	78	0	22	0	2.73
	35	♂	66	肺結核	21	0.05	1500	95	0	5	0	2.57
	36	♂	75	肺結核	14	0.02	4700	87	0	13	0	2.74
	37	♀	76	肺結核	22	0.02	3900	89	0	11	0	2.66
	38	♂	83	肺結核	19	0.09	2100	88	2	10	0	2.57
	39	♀	66	肺結核	18	0.09	3300	83	0	16	1	2.46
	40	♀	73	肺結核	22	0.10	1000	64	3	29	4	2.13
	41	♂	62	肝炎	19	0.07	—	—	—	—	—	—
	42	♀	62	肝炎	13	0.12	600	—	—	—	—	—
	43	♂	60	胃癌	20	0.02	100	—	—	—	—	—
	44	♂	75	胃癌	23	0.02	—	—	—	—	—	—
	45	♂	62	肝胃癌	12	0.13	1200	93	0	4	3	3.18
	46	♀	66	肺胃癌	7	0.09	4000	94	0	6	0	2.72
47	♂	81	食道癌	10	0.04	6300	88	0	12	0	2.82	
48	♂	87	胃癌	15	0.10	2300	61	0	28	11	3.31	
49	♂	77	腎炎	16	0.16	1700	78	0	19	3	2.87	
50	♂	60	腎炎	15	0.12	100	70	0	30	0	3.27	
平均			70		16.3	0.08	2660	83	1	15	1	2.75
総平均			50		13.3	0.09	2410	84	1	14	1	2.75

第4章 総括並びに考按

皮膚発泡のためにカンタリジンをを用いる方法は Zie-ler の Haut u. Geschlechtskrankheiten に Blasenprobe として原法が記載されているが、その滲出液の細胞学的検索は Litten⁵⁾ 及び Neumann⁶⁾ らによってなされ、それらの成績をまとめた Dionisi⁴⁾ によると、骨髓性及びリンパ球性白血病のいずれにおいても、滲出液中の細胞は通常好中球で占められると云われる。

一方、正常人における滲出液については、岡野⁷⁾ らは発泡膏貼布後24時間目の細胞数と細胞分類を算定し、細胞数は1630~4370で、細胞分類では好中球が84~98.5%で大部分を占め、他に非顆粒球1.5~16.0%、好酸球0~0.5%、好塩基球0~1/300~500と報告している。教室の咲川⁸⁾ も正常人について検索しているが、その結果発泡開始後間もなくより滲出液の増加と共に白血球の遊出が認められるようになり、発泡開始1時間後には細胞数は平均1037であり、細胞の大部分は分葉核好中球が占めていた。3時間後には細胞数は急激に増加してピークに達した後、6時間目にはやや減少するが、12時間後には再び増加して2083に達するという二相性の変動がみられると述べている。更に細胞分類については何れの時間においても分葉核好中球が80%以上を占め、他に少数のリンパ球、単球、好酸球及び桿状好中球を認めるが、時間の経過に従って好中球百分率の軽度減少と単球リンパ球の百分率の軽度増加を認め、発泡開始12時間後においては、好中球86.3% (桿状好中球0.3%)、リンパ球8.6%、単球4.2%、好酸球0.8%、好塩基球0.1%の細胞分類であったと報告している。

私も、肺結核、肝炎、癌、腎炎等の疾患についてカンタリジンをを用いて実験を行ったが、疾患別には各症例の間の細胞数のばらつきが大きく、一定の傾向は認められなかった。更に疾患別を度外視して年令別に比較を行ったが、平均値では青年群1820、壮年群2500、老年群2660と加齢に従って増加するようにはみえたが、疾患別の比較の場合と同様に、各症例の間のばらつきが大きいため、結論を下すことは困難であると考えられた。白血病については咲川は特に急性白血病について細胞反応が低下することをみているが、今回行った著者の実験で、癌においては必ずしも細胞反応は低下しないことが認められ、癌と白血病では皮膚の細胞反応における態度の違いがあるものと考えられた。細胞分類について、私の成

績では殆んど分葉核好中球によって占められ、疾患別、年令別に有意の差がみられず、また末梢血液像との間にも相関関係が認められなかったが、これらの成績は咲川の成績と比較的によく一致する。

好中球平均核数について、咲川⁸⁾ は正常人においては発泡開始後1時間目に平均2.85であり、時間の経過と共に増加するが、年令別、性別による有意の差はみられず、ただ急性骨髓性白血病では正常人に比し低値を示したと述べているが、私の実験では上記の種々の疾患においては正常人との間に差がないと考えられる成績が得られた。

一方、発泡に要する時間については、宮尾⁹⁾ は正常人では6.5~36時間で、その84%は8~20時間に発泡し、平均13.5時間であるが、滲出性及びアレルギー性疾患患者では5.5~20時間、平均10.7時間と健康人より短縮されることを報告している。咲川⁸⁾ は正常人では5~13時間、平均8.7時間であるが、加齢と共に遅延し、急性白血病でも遅延傾向がみられることを報告している。私の実験では上記疾患別による発泡時間の差は認められなかったが、肺結核、肝炎で加齢と共に遅延する傾向が認められた。発泡液量についても消耗性疾患で減少がみられた他に加齢とともに減少することが認められたが、これらの成績は毛細血管及び組織の透過性と加齢との間に相関関係の存在することを示唆する成績と考えられた。この点について、咲川⁸⁾ も急性白血病に於て局所の炎症性刺激に対する反応は、反応の開始が遅延するのみでなく、弱いことをみており、私の成績とよく一致するものと思われる。

以上の成績を総括すると、炎症性刺激に対して、先づ末梢血液像に関係なく好中球が反応するという Boggs¹⁰⁾ 並びに Perillie¹¹⁾ の説の如く、細胞反応としては疾患と殆んど無関係に好中球が反応するが、その後の経過に於て疾患別或いは年令別の態度の差が明らかになるものと考えられ、発泡膏による滲出液の検索は、種々の疾患の病態生理学的な解明に有用な一方法であるということができよう。

第5章 結 語

局所における生体の防衛反応について年令及び疾患(肺結核、肝炎、癌、腎炎等)による違いを検索する目的で、発泡膏による滲出液の細胞学的検索を行い、次のような結論が得られた。

1) 前腕屈側に発泡膏を貼布して検討したところ、発泡に要する時間は平均13.3時間であるが、加齢と

共に延長する傾向が認められた。疾患別では老年者の肺結核で発泡に要する時間が明らかに延長し、若年者の肝炎では短縮する傾向がみられた。

2) 発泡膏貼布後24時間に生じた水泡中の発泡液量は平均0.09cc/cm²であるが、加齢と共に減少する傾向がみられた。疾患別では肺結核患者では少量であり、若年者の肝炎で最も多量であった。

3) 発泡液中の細胞数は平均2410/mm³であるが、各症例毎のばらつきが大きく、年齢別及び疾患別には一定の傾向はみられなかった。

4) 発泡液中の細胞分類では好中球が大多数を占め、年齢別及び疾患別に比較しても有意の差はみられなかった。

また好中球の平均核数は平均2.75であるが年齢及び疾患によるはっきりした特徴的傾向はみられなかった。

5) 以上の成績から、炎症性刺激に対する局所の反応は年齢及び疾患によって態度を異にするものであるということが出来る。

稿を終えるに当り御懇篤なる校閲を頂いた平木潔教授に深甚なる謝意を捧げると共に、御指導頂いた浅野健夫博士に深謝致します。

(本論文の要旨は第13回日本臨床病理学会総会に於て発表した)

文 献

- 1) Dutrochet, Rebeck より引用
- 2) Rebeck, J. W. and Crowley, J. H., A method of studying leukocytic functions in vivo, Ann. New York Acad. Sci., **59**: 757~805, 1955.
- 3) Perillie, P. E. and Finch, S. C., The local exudative cellular response in leukemia, J. Clin. Invest., **39**: 1353~1357, 1960.
- 4) Dionisi, A., Sugli elementi dell'essudato endoalveolare nella linfemia, complicata a polmonite (condimostrazioni di preparati). Folia haemat., **7**: 368~371, 1909.
- 5) Litten, Dionisi より引用
- 6) Neumann, Dionisi より引用
- 7) 岡野錦弥, 白血病細胞の胸管及び淋巴路における浸潤形式について. 最新医学, **14**: 166~185, 1959.
- 8) 咲川嘉信, 発泡膏貼布による滲出液の細胞学的研究. 岡山医会誌, **76**: 239~266, 1964.
- 9) 宮尾定信, 袴田八郎, 炎症性素質に関する研究. 日内会誌, **49**: 502~503, 1960
- 10) Boggs, D. R., The cellular composition of inflammatory exudates in human leukemias, Blood J. Hemat., **15**: 466~475, 1960.

**Studies on the exudates formed by the application of
Unguentum vesicans.**

Part I . Cytological studies.

Kenkichi KUROSE

Dept. of Internal Medicine
(Director : Prof. K. HIRAKI)
Okayama University Medical School

In order to study the difference of defense reactions to local stimulation in various diseases, an experiment was performed to examine cellular characteristics of exudates produced by the local application of Unguentum vesicans.

The results of the study are summarized as follows.

(1) The average time to the onset of blister formation following the application of Unguentum vesicans was 13.3 hours, and had a tendency to be delayed by aging process, particularly in an old age group with lung tuberculosis.

(2) The average volume of the exudates at 24 hours after the application was 0.09cc/cm², and had a tendency to be decreased by aging process and in patients with consumptive diseases.

(3) The average number of cells in the exudates at 24 hours after the application was 2410/mm², and had no relationship to the age or disease processes of patients.

(4) The majority of the cells in the exudates consisted of polymorphonuclear neutrophils with a few non-segmented neutrophils, lymphocytes, monocytes and eosinophils. The cellular composition in the exudates was little altered by the age or disease processes of patients.

(5) The investigation of the exudates produced by the application of Unguentum vesicans may be useful in the evaluation of local inflammatory responses in various disease states.