

腸チフス、パラチフス A, B 並びに大腸菌毒素 の骨髓培養に及ぼす影響について

第 2 編

腸チフス、パラチフス A, B 並びに大腸菌毒素の家兎骨髓内 偽好酸球及び人骨髓内好中球に及ぼす影響について

— 遊走速度、墨粒貪喰能、生体染色 —

岡山大学医学部平木内科教室 (主任: 平木 潔教授)

本 倉 潔

[昭和 34 年 5 月 25 日受稿]

目 次

第 1 章 緒 言	第 3 項 パラチフス B 菌毒素添加の場合
第 2 章 実験材料並びに実験方法	第 4 項 大腸菌毒素添加の場合
第 1 節 実験材料	第 2 節 人骨髓培養に及ぼす影響
第 2 節 実験方法	第 1 項 腸チフス菌毒素添加の場合
第 3 節 観察方法	第 2 項 大腸菌毒素添加の場合
第 3 章 実験成績	第 3 節 腸チフス患者血清の家兎骨髓培養に 及ぼす影響について
第 1 節 家兎骨髓培養に及ぼす影響	第 4 章 総括並びに考按
第 1 項 腸チフス菌毒素添加の場合	第 5 章 結 論
第 2 項 パラチフス A 菌毒素添加の場合	

第 1 章 緒 言

感染症に於ける血液細胞の機能的方面の研究はその形態学的方面と共に広汎に見受けられる。即ち感染症の末梢白血球の遊走機能については Philipsborn⁸⁸⁾⁸⁹⁾、加登・北川¹⁹⁾、植木⁹⁾、大川¹²⁾、立松³⁷⁾等の研究があり、その墨粒貪喰能については Metchnikoff⁸⁵⁾、Philipsborn⁸⁸⁾⁸⁹⁾、Grunke⁷⁴⁾、山下⁶⁴⁾、渡辺⁵⁷⁾、加登・北川¹⁹⁾等の業績がある。又ワクチンによる動物実験では太田¹³⁾、水木⁴⁹⁾、加登¹⁷⁾、渡辺⁶⁸⁾、千田³⁴⁾、板倉³⁾等の報告がある。

一方骨髓内細胞についての研究は誠に寥々たるもので、Galinoski⁶⁹⁾、糸井⁴⁾⁶⁾、井上⁶⁾等の報告をみるのみである。

処が諸家の実験はすべて超生態観察によるものであつて、当然長時間に亘つて正確に観察することは行われていない。又これらの実験は細菌毒素が生体内で働いた後の血液、骨髓を観察して居るから、そ

の間には複雑な防禦反応が関与しているため、その細菌毒素が骨髓内細胞機能に対し直接如何様に影響を及ぼすかについては全く不明である。

そこで私は骨髓内白血球に細菌毒素が直接如何様に影響を及ぼすかを観察しようと試み、教室考案の骨髓体外組織培養法を応用して、それに細菌毒素を直接添加してその細胞機能(遊走機能、墨粒貪喰能、生体染色性)に及ぼす影響を観察して聊か知見を得たので以下報告する。

第 2 章 実験材料並びに実験方法

第 1 節 実験材料

- 1) 細菌毒素 第 1 編に同じ
- 2) 実験動物 第 1 編に同じ

第 2 節 実験方法

- 1) 遊走速度の測定に於ては、家兎大腿骨々髓では凹窩載物硝子式を用い、人骨髓では海野氏打抜載物硝子式方法を用いた。第 1 編の被覆培養法に於け

ると全く同様の方法で培養を行つた。

2) 墨粒貪喰能の測定には教室角南³⁰⁾の提唱している海野氏打抜載物硝子式を用いた。墨汁は良質の古梅園製紅花墨を用い、硯にリングル氏液を入れて軽くすり、濾過して使用した。濃度は森氏の方法に従い、墨汁の液柱の高さを2.5 mmとして下に置いた白紙上の墨の辺縁が見え始めるところをとつた。この際に光源は60 W. 電球を高さ20 cmの所より照した。尚このようにして用意した墨汁は煮沸滅菌して直ちに実験に供した。ヘパリン加血漿及び鶏胎圧搾液は第1編で述べたものと同じであるが、培養開始後30分前後に凝固するよう使用前にヘパリンの量を加減した。

添加物の量的関係を一定にするためにツベルクリン注射器に1/2皮下針を使用した。添加物：圧搾液：墨汁の比は1：1：2として充分に混和して使用した。

先ず海野氏打抜載物硝子の穴の中でデッキグラス上にヘパリン加血漿を1滴々下し、直径1.5 cmの円形に拡げる。次にその中央に骨髓片を置き、前以て調製しておいた添加物、墨汁、圧搾液の混和液を2滴重畳する。添加する腸組織片は必ず培地の中央にあるようにし、墨汁が均等に分布するように注意する。然る後にデッキグラスを以て穴を覆い、少量のバルサムを用いて完全に封ずる。その儘の位置で孵卵器に入れ、30分後にして血漿が凝固してから裏かえして置く。

3) 生体染色の観察には墨粒貪喰能観察に用いた海野氏打抜載物硝子を用意した。墨粒貪喰能観察に於けると同様に先ず血漿を1/2皮下針より1滴々下し、1.5 cm径に拡げ、骨髓片をその中央におき、添加物及び鶏胎圧搾液を夫々1滴を重畳し、均等に混和する。その上に0.04%中性赤水溶液1滴を加える。次いで被覆硝子で穴を覆い、バルサムで封入し、血漿の凝固するのを待つて裏返して孵卵器に入れる。

第3節 観察方法

1) 遊走速度の測定：アッペの描画器を用いて白血球(成熟偽好球又は好中球)を任意にえらび、30秒毎に形態を描画し、その中心点の移動距離を順次記録して2分間観察する。その延距離を尺測により計測して1分間値を算出す。最低5ケの細胞の遊走速度(1分間値)の平均を以て、その細胞の遊走速度とした。

2) 墨粒貪喰能の測定：教室角南³⁰⁾の提唱せる方法に従つた。即ち家兎骨髓内成熟偽好酸球では増

生帯周辺部を谷氏の分類に従つて100ケを数え、杉山の方法に従つて平均貪喰度を算定した。人骨髓内成熟好中球については原組織を中心として各帯を通る放射線上の細胞について貪喰度を測定した。

3) 生体染色度の測定：教室田村³⁸⁾の提唱による方法に従い、骨髓原組織を中心として各増生帯を通る放射線上の成熟偽好酸球について観察し、教室田村³⁸⁾の分類によりその生体染色度を分類して平均染色度を算出した。

第3章 実験成績

第1節 家兎骨髓培養に及ぼす影響

第1項 腸チフス菌毒素添加の場合

1. 遊走速度

表1, 図1に示す如く高濃度10 mg/ccでは3時

表1 腸チフス菌毒素添加, 偽好酸球遊走速度 (家兎) No. 101

時間	3	6	12	24	48
対 照	11.8	8.3	8.5	5.6	6.5
10 mg	9.1	6.5	5.4	2.8	2.2
1 "	8.8	6.6	5.5	6.1	2.2
0.1 "	9.9	5.1	6.6	7.1	4.4
0.01 "	8.8	8.4	6.6	5.3	4.8

No. 102

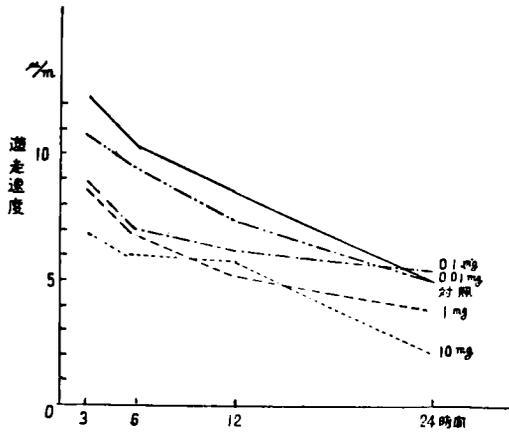
時間	3	6	12	24	48
対 照	11.8	11.6	10.1	5.9	2.9
10 mg	5.7	6.7	6.4	2.2	1.1
1 "	9.1	7.5	6.5	3.4	1.9
0.1 "	9.4	9.2	6.4	3.8	2.4
0.01 "	9.5	9.1	9.1	5.7	5.2

No. 103

時間	3	6	12	24	48
対 照	13.4	11.0	6.9	3.8	2.9
10 mg	5.5	5.2	5.3	1.2	0
1 "	8.0	6.5	3.6	2.2	0
0.1 "	7.1	6.4	5.3	5.7	3.9
0.01 "	13.8	10.6	6.1	4.9	3.8

間値で対照11.8~13.4 μ /m, 平均12.3 μ /m に対して5.5~9.1 μ /m, 平均6.8 μ /m と約1/2に低下していた。更に1 mg/cc, 0.1 mg/ccでも機能低下を見、0.01 mg/cc になつて漸く対照に近い値を

図1 腸チフス菌毒素添加, 偽好酸球遊走速度 (家兎)



示して居た。即ち濃度に応じて機能障害度が高い。

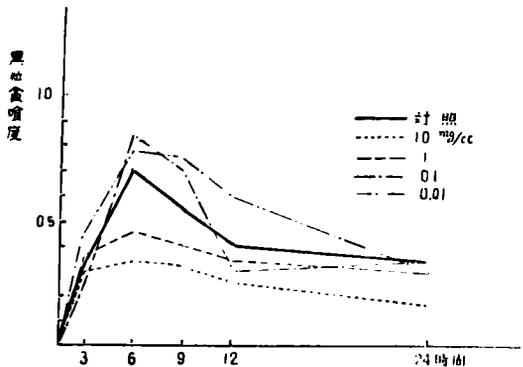
2. 墨粒貪喰

表 2, 図 2 に示す如く 6 時間目で 10 mg/cc では

表 2 腸チフス菌毒素添加, 墨粒貪喰 (家兎)

動物番号	時間	3	6	9	12	24 st
No. 201	対 照	0.26	0.48	0.32	0.40	0.34
	10 mg/cc	0.29	0.19	0.22	0.28	0.28
	1 "	0.36	0.33	0.28	0.31	0.35
	0.1 "	0.22	0.85	0.78	0.48	0.28
	0.01 "	0.48	0.65	0.58	0.50	0.20
No. 202	対 照	0.31	0.97	0.74	0.43	0.36
	10 mg/cc	0.36	0.46	0.43	0.31	0.07
	1 "	0.42	0.67	0.62	0.46	0.34
	0.1 "	0.35	1.10	0.79	0.40	0.44
	0.01 "	0.47	0.92	1.00	0.80	0.39
No. 203	対 照	0.45	0.65	0.56	0.37	0.32
	10 mg/cc	0.25	0.37	0.28	0.19	0.15
	1 "	0.30	0.38	0.30	0.25	0.21
	0.1 "	0.24	0.67	0.53	0.32	0.27
	0.01 "	0.37	0.77	0.67	0.50	0.31

図 2 腸チフス菌毒素添加, 墨粒貪喰 (家兎)



対照に比してかなりの低値を示して居たが, 他の濃度では寧ろ機能亢進の像を見たが, 以後の時間では何れの濃度でも対照の値に近くなつて居た。

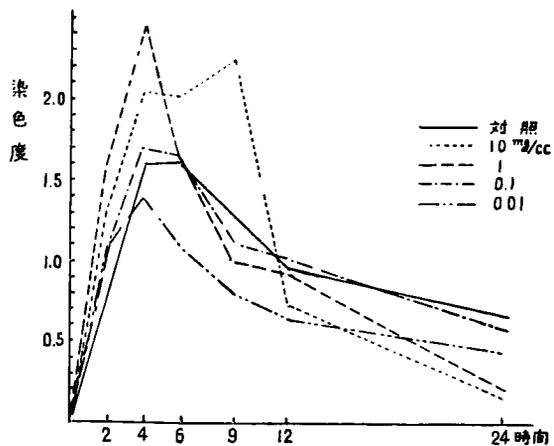
3. 生体染色

表 3, 図 3 に示すように 10 mg/cc, 1 mg/cc で

表 3 腸チフス菌毒素添加 生体染色 (家兎)

動物番号	時間	2	4	6	9	12	24
No. 301	対 照	0.52	1.10	0.95	0.80	0.65	0.40
	10 mg/cc	0.79	1.89	1.70	2.67	1.37	0.32
	1 "	1.18	2.25	1.20	1.05	0.92	0.12
	0.1 "	0.54	1.01	1.06	0.98	0.78	0.83
	0.01 "	0.77	0.92	0.45	0.20	0.27	0.30
No. 302	対 照	0.78	1.85	1.90	1.50	1.09	0.76
	10 mg/cc	1.17	1.96	1.94	1.79	0.57	0.00
	1 "	1.61	2.19	1.85	1.11	1.20	0.21
	0.1 "	1.10	1.73	1.73	0.90	1.03	0.49
	0.01 "	1.47	1.47	1.45	0.85	0.61	0.64
No. 303	対 照	0.80	1.85	1.85	1.45	1.08	0.82
	10 mg/cc	1.47	2.29	2.26	2.19	0.25	0.13
	1 "	1.94	2.88	1.93	0.85	0.66	0.35
	0.1 "	1.56	2.35	2.14	1.42	1.20	0.52
	0.01 "	1.51	1.82	1.45	1.01	0.63	0.73

図 3 腸チフス菌毒素添加, 生体染色 (家兎)



は12時間目までは対照より高値を示し, 以後は対照より低値を示して居た。即ち早期高度染色及び早期褪色の像を認めた。0.1 mg/cc では対照と略々同じで, 0.01 mg/cc では対照より低値を示して居た。

第2項 パラチフスA菌毒素添加の場合

1. 遊走速度

表 4, 図 4 に示す如く 10 mg/cc では 3 時間, 6 時間値は 6.4, 6.5 μ /m (平均値) で対照の

表4 パラチフスA菌毒素添加, 偽好酸球遊走速度

No. 105

時間	時間				
	3	6	12	24	48
対 照	13.2	7.4	6.2	4.6	5.7
10 mg	9.9	6.6	5.2	5.2	3.3
1 "	10.9	7.1	4.4	7.6	3.0
0.1 "	11.5	6.7	6.9	6.5	3.1
0.01 "	8.1	6.1	6.4	4.7	5.3

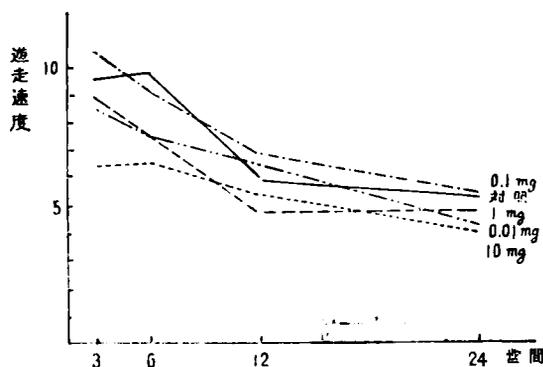
No. 106

時間	時間				
	3	6	12	24	48
対 照	7.2	10.4	5.4	5.9	2.6
10 mg	1.8	4.9	5.9	2.4	1.4
1 "	5.9	7.3	4.7	3.7	2.1
0.1 "	8.8	9.1	6.5	5.3	1.8
0.01 "	7.1	7.1	6.7	5.4	2.3

No. 107

時間	時間				
	3	6	12	24	48
対 照	8.5	11.5	5.9	5.3	3.5
10 mg	7.6	8.1	5.2	4.5	1.1
1 "	8.8	7.9	5.4	2.9	1.5
0.1 "	11.2	11.5	7.2	4.3	2.3
0.01 "	11.8	9.4	6.4	2.6	2.0

図4 パラチフスA菌毒素添加, 偽好酸球遊走速度(家兎)



9.6, 9.8 μ /m (平均値) に比し中等度に機能低下を示した。爾余の濃度では対照と有意の差を見なかつた。

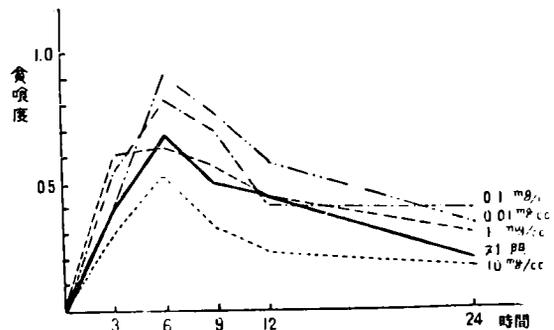
2. 墨粒貪喰

表5, 図5に示すように10 mg/ccでは全経過を通じて機能低下を示し, 1 mg/cc及び0.1, 0.01 mg/ccでは対照より貪喰度が高く機能亢進の像を見た。腸チフス菌毒素の場合と略々同様の結果

表5 パラチフスA菌毒素添加, 墨粒貪喰(家兎)

動物番号	時間	時間				
		3	6	9	12	24
No. 204	対 照	0.52	0.58	0.41	0.66	0.12
	10 mg/cc	0.32	0.63	0.52	0.20	0.13
	1 "	0.51	0.57	0.40	0.44	0.28
	0.1 "	0.66	0.83	0.61	0.36	0.37
	0.01 "	0.41	1.10	1.00	0.70	0.42
No. 205	対 照	0.29	0.50	0.37	0.42	0.25
	10 mg/cc	0.10	0.48	0.40	0.30	0.20
	1 "	0.65	0.45	0.50	0.45	0.29
	0.1 "	0.60	0.95	0.91	0.47	0.49
	0.01 "	0.48	0.93	0.54	0.50	0.32
No. 206	対 照	0.38	0.93	0.73	0.64	0.22
	10 mg/cc	0.19	0.48	0.35	0.18	0.18
	1 "	0.55	0.89	0.70	0.44	0.34
	0.1 "	0.55	0.66	0.58	0.40	0.32
	0.01 "	0.31	0.71	0.80	0.57	0.28

図5 パラチフスA菌毒素添加, 墨粒貪喰(家兎)



を得た。

3. 生体染色

表6, 図6に示すように10 mg/ccでは9時間目を境にして典型的早期高度染色, 早期褪色を示したが, 爾余の濃度では対照より寧ろ染色度は低値を示し, 細胞機能亢進の像を示して居たが, その差は著明ではなかつた。

第3項 パラチフスB菌毒素添加の場合

1. 遊走速度

表7, 図7に示す如く, 10 mg/ccでは各観察時間で対照に比し軽度に低下していた。爾余の濃度では対照に比し有意の差を見なかつた。全般に骨髓内偽好酸球遊走速度には大した影響を見なかつた。

2. 墨粒貪喰

表8, 図8に示すように高濃度(10 mg/cc, 1 mg/cc)では対照と有意の差を見ず, 爾余の低濃度(0.1, 0.01 mg/cc)では対照より高値を示し, 貪

表6 パラチフスA菌毒素添加 生体染色(家兎)

動物番号	時間	2	4	6	9	12	24
No. 304	対 照	0.90	1.50	1.35	1.40	1.22	0.6
	10 mg/cc	1.22	1.95	2.10	1.15	1.14	0.38
	1 "	1.14	1.18	1.54	1.47	1.41	1.13
	0.1 "	0.70	1.35	1.78	1.61	1.71	0.86
	0.01 "	1.29	1.37	1.48	1.30	1.41	0.83
No. 305	対 照	1.05	1.93	1.70	1.62	1.50	0.90
	10 mg/cc	1.31	2.33	2.07	0.68	0.23	0.29
	1 "	1.05	1.45	1.32	1.16	1.02	0.53
	0.1 "	0.81	1.70	1.61	0.99	0.64	0.61
	0.01 "	1.36	1.59	1.46	0.98	0.63	0.21
No. 306	対 照	1.05	1.97	1.75	1.63	1.58	0.90
	10 mg/cc	1.38	2.41	2.23	1.17	1.03	0.72
	1 "	1.18	1.53	1.52	1.34	1.18	0.90
	0.1 "	1.28	1.75	1.78	1.57	1.62	1.32
	0.01 "	1.36	1.60	1.63	1.42	1.33	0.95

図6 パラチフスA菌毒素添加, 生体染色(家兎)

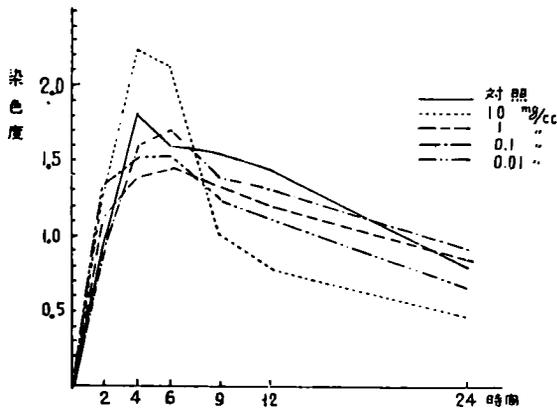


表7 パラチフスB菌毒素添加, 偽好酸球遊走速度 No. 109

動物番号	時間	3	6	12	24	48
No. 207	対 照	0.21	0.65	0.65	0.40	0.30
	10 mg/cc	0.30	0.80	0.81	0.65	0.44
	1 "	0.24	0.58	0.63	0.48	0.39
	0.1 "	0.26	0.69	0.73	0.41	0.48
	0.01 "	0.43	1.01	0.87	0.78	0.55
No. 208	対 照	0.25	0.57	0.48	0.43	0.37
	10 mg/cc	0.15	0.28	0.30	0.32	0.14
	1 "	0.28	0.75	0.47	0.45	0.38
	0.1 "	0.24	0.76	0.75	0.50	0.38
	0.01 "	0.45	0.93	0.77	0.78	0.52
No. 209	対 照	0.50	0.57	0.73	0.51	0.35
	10 mg/cc	0.46	0.61	0.58	0.54	0.37
	1 "	0.32	0.75	0.56	0.49	0.49
	0.1 "	0.40	1.01	0.92	0.60	0.36
	0.01 "	0.32	0.88	0.82	0.72	0.51

No. 110

動物番号	時間	3	6	12	24	48
No. 207	対 照	8.9	7.5	7.1	5.2	2.3
	10 mg	10.0	7.9	7.8	6.2	2.4
	1 "	13.0	6.9	6.4	7.9	2.6
	0.1 "	13.0	11.1	11.5	7.1	2.3
	0.01 "	13.4	7.9	7.3	9.8	3.4

No. 111

動物番号	時間	3	6	12	24	48
No. 208	対 照	13.8	10.9	8.1	4.5	2.6
	10 mg	11.9	8.0	6.2	3.9	2.4
	1 "	13.2	9.9	7.1	3.1	2.0
	0.1 "	12.5	10.4	8.4	5.8	1.8
	0.01 "	13.5	11.6	9.7	3.6	2.2

図7 パラチフスB菌毒素添加, 偽好酸球遊走速度(家兎)

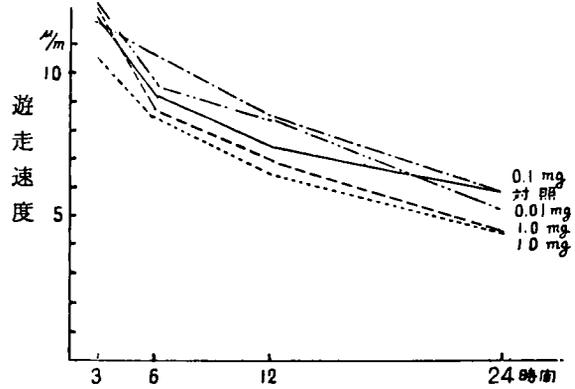
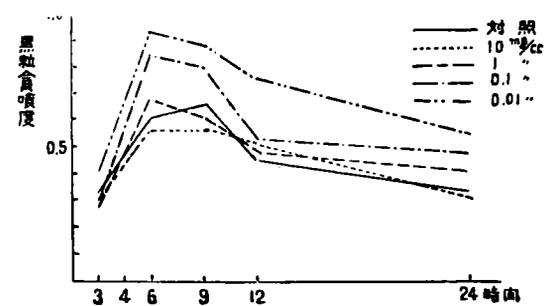


表8 パラチフスB菌毒素添加 墨粒食喰(家兎)

動物番号	時間	3	6	9	12	24
No. 207	対 照	0.21	0.65	0.65	0.40	0.30
	10 mg/cc	0.30	0.80	0.81	0.65	0.44
	1 "	0.24	0.58	0.63	0.48	0.39
	0.1 "	0.26	0.69	0.73	0.41	0.48
	0.01 "	0.43	1.01	0.87	0.78	0.55
No. 208	対 照	0.25	0.57	0.48	0.43	0.37
	10 mg/cc	0.15	0.28	0.30	0.32	0.14
	1 "	0.28	0.75	0.47	0.45	0.38
	0.1 "	0.24	0.76	0.75	0.50	0.38
	0.01 "	0.45	0.93	0.77	0.78	0.52
No. 209	対 照	0.50	0.57	0.73	0.51	0.35
	10 mg/cc	0.46	0.61	0.58	0.54	0.37
	1 "	0.32	0.75	0.56	0.49	0.49
	0.1 "	0.40	1.01	0.92	0.60	0.36
	0.01 "	0.32	0.88	0.82	0.72	0.51

図8 パラチフスB菌毒素添加: 墨粒食喰(家兎)



喰機能亢進の像を認めた。

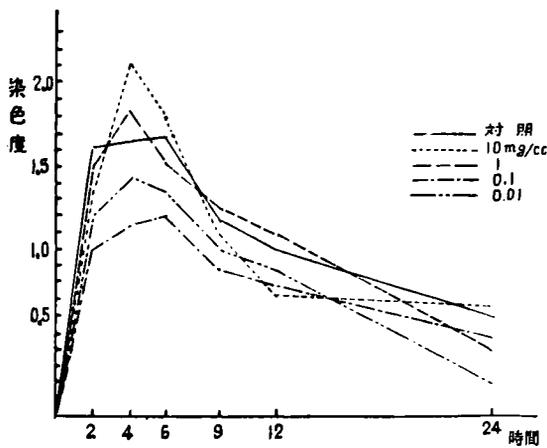
3. 生体染色

表 9, 図9 に示すように高濃度 (10 mg/cc) では対照より細胞機能が少々低下しているようであるが大差はなかつた。0.1, 0.01 mg/cc では全観察時間を通じて対照よりも染色度は低値を示し、機能の活発なことが推測される。

表 9 パラチフス B 菌毒素添加 生体染色 (家兎)

動物番号	時間	時間					
		2	4	6	9	12	24
No. 307	対 照	1.40	1.72	1.62	1.10	0.83	0.36
	10 mg/cc	1.10	1.56	1.60	1.20	0.82	0.74
	1 "	1.30	1.72	1.37	1.10	0.70	0.38
	0.1 "	0.90	1.06	1.30	0.90	0.62	0.52
	0.01 "	1.20	1.36	1.45	1.20	0.67	0.05
No. 308	対 照	1.60	1.75	1.75	1.20	1.18	0.85
	10 mg/cc	1.25	1.92	1.60	0.85	0.70	0.58
	1 "	1.20	1.62	1.67	1.40	1.31	0.41
	0.1 "	0.95	1.07	1.08	0.80	0.91	0.44
	0.01 "	1.10	1.27	1.23	0.80	0.99	0.35
No. 309	対 照	1.80	1.48	1.67	1.24	1.00	0.59
	10 mg/cc	1.73	2.88	2.20	1.19	0.70	0.66
	1 "	2.00	2.18	2.02	1.35	1.29	0.41
	0.1 "	1.15	1.29	1.72	0.94	0.84	0.48
	0.01 "	1.30	1.63	1.34	1.00	0.88	0.20

図 9 パラチフス B 菌毒素添加, 生体染色 (家兎)



第4項 大腸菌毒素添加の場合

1. 遊走速度

表10, 図10に示す如く3, 6時間目では対照より1~2μ/m内の差を示して居たが、爾後の時間では総ての濃度に於て対照より高値を示して居た。即ち該菌毒素では有意ある機能障害はなく寧ろ機能亢

表10 大腸菌毒素添加, 偽好酸球遊走速度 (家兎)

No. 112

時間	時間				
	3	6	12	24	48
対 照	13.5	11.5	5.8	6.8	2.7
10 mg	10.8	11.6	8.9	7.8	1.7
1 "	9.5	10.5	8.6	7.4	1.2
0.1 "	11.4	10.2	9.5	9.4	0.4
0.01 "	13.9	9.2	9.8	7.5	4.7

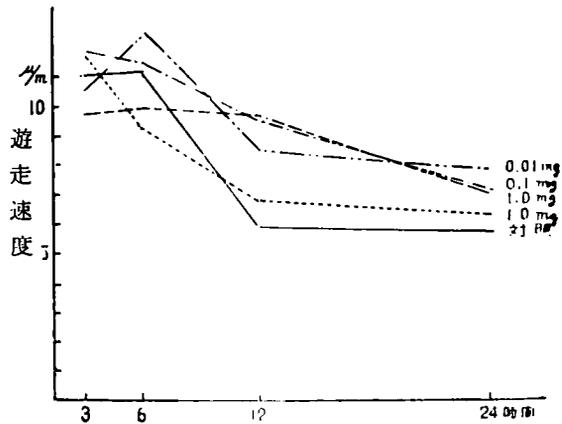
No. 113

時間	時間				
	3	6	12	24	48
対 照	9.9	10.3	6.1	6.0	3.6
10 mg	12.9	8.5	6.3	6.1	3.8
1 "	9.5	8.5	6.8	6.1	4.7
0.1 "	12.7	10.2	7.6	5.7	9.1
0.01 "	9.8	6.9	6.8	11.6	3.0

No. 114

時間	時間				
	3	6	12	24	48
対 照	9.6	11.6	5.9	6.6	2.1
10 mg	11.8	7.7	5.4	5.0	2.1
1 "	10.5	10.9	14.1	7.4	2.7
0.1 "	11.5	14.3	12.1	5.9	1.7
0.01 "	7.8	21.5	8.9	4.5	2.1

図10 大腸菌毒素添加, 偽好酸球遊走速度 (家兎)



進の傾向を認めた。

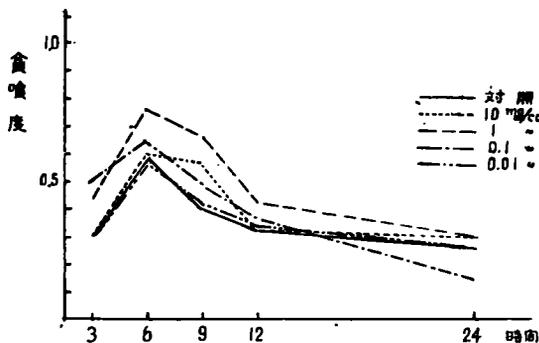
2. 墨粒貪喰

表11, 図11に示すように高濃度 (10 mg/cc) では対照と有意の差を認めず、他の濃度では高値を示して居た。即ちパラチフス B 菌毒素添加の場合と大体同じ傾向を示して居た。

表11 大腸菌毒素添加，墨粒食喰（家兎）

動物番号	時間	時間				
		3	6	9	12	24
No. 210	対 照	0.30	0.50	0.31	0.20	0.21
	10 mg/cc	0.30	0.52	0.48	0.20	0.27
	1 "	0.40	0.58	0.44	0.40	0.29
	0.1 "	0.55	0.95	0.62	0.49	0.13
	0.01 "	0.30	0.71	0.55	0.35	0.30
No. 211	対 照	0.32	0.58	0.50	0.40	0.23
	10 mg/cc	0.32	0.60	0.66	0.40	0.29
	1 "	0.43	0.59	0.44	0.36	0.33
	0.1 "	0.50	0.36	0.43	0.20	0.13
	0.01 "	0.26	0.50	0.40	0.34	0.30
No. 212	対 照	0.22	0.67	0.36	0.32	0.27
	10 mg/cc	0.22	0.49	0.54	0.32	0.33
	1 "	0.45	1.07	0.93	0.50	0.28
	0.1 "	0.48	0.60	0.39	0.38	0.20
	0.01 "	0.30	0.48	0.27	0.29	0.19

図11 大腸菌毒素添加，墨粒食喰（家兎）



3. 生体染色

表12, 図12に示すように低濃度 (0.01 mg/cc) では対照と略々同じ染色性を示したが, 他の濃度では対照より低値を示し, 細胞機能の旺盛なることを物語るようであった。

第2節 人骨髓培養に及ぼす影響 (遊走速度)

第1項 腸チフス菌毒素添加の場合

表13, 図13に示す如く 0.01 mg/cc の濃度では対照と略々同じ値を示すが, 他の濃度ではすべて対照より低値を示して居た。しかし観察時間の経過と共に対照との差はちぢまっていた。

第2項 大腸菌毒素添加の場合

表14, 図14に示す如く高濃度, 低濃度共に対照より低値を示して居たが大差はなかつた。腸チフス菌毒素添加の場合に比し障害作用は非常に軽微であつた。

表12 大腸菌毒素添加 生体染色 (家兎)

動物番号	時間	時間					
		2	4	6	9	12	24
No. 310	対 照	1.82	1.72	1.54	0.90	0.66	0.59
	10 mg/cc	0.77	1.30	1.30	1.10	0.80	0.54
	1 "	1.23	1.32	1.48	1.35	1.21	0.57
	0.1 "	1.32	1.52	1.12	1.06	0.92	0.20
	0.01 "	1.71	1.80	1.94	0.65	0.50	0.64
No. 311	対 照	1.82	2.25	2.05	1.00	0.55	0.12
	10 mg/cc	1.67	1.70	1.60	1.00	0.77	0.66
	1 "	1.79	1.95	1.73	1.20	0.91	0.64
	0.1 "	1.74	1.70	1.35	1.30	1.19	0.69
	0.01 "	1.95	2.10	2.06	0.85	0.90	0.35
No. 312	対 照	1.16	2.11	1.21	1.10	0.59	0.37
	10 mg/cc	0.56	1.32	1.30	1.02	0.98	0.60
	1 "	0.79	2.01	1.53	1.47	1.06	0.77
	0.1 "	1.29	1.58	1.58	1.25	1.07	0.43
	0.01 "	1.50	1.92	2.0	0.90	0.70	0.51

図12 大腸菌毒素添加，生体染色 (家兎)

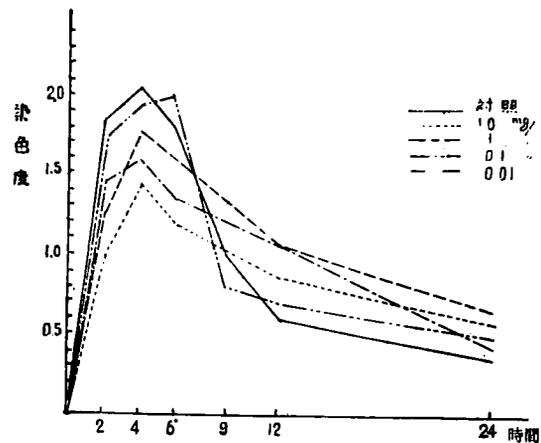


表13 腸チフス菌毒素添加，好中球遊走速度 (人間) No. 117

時間	3	6	12	24
対 照	11.6	7.4	8.4	4.0
10 mg/cc	6.4	4.8	4.4	2.1
1 "	5.9	3.3	7.2	3.6
0.1 "	6.8	5.1	4.9	2.4
0.01 "	10.5	7.7	4.6	3.5

No. 118

時間	3	6	12	24
対 照	13.2	9.4	5.2	2.8
10 mg/cc	8.2	4.8	3.7	4.2
1 "	8.8	7.5	3.2	1.5
0.1 "	6.1	6.3	4.7	2.9
0.01 "	12.7	10.7	8.0	6.3

図13 腸チフス菌毒素添加, 好中球遊走速度 (人間)

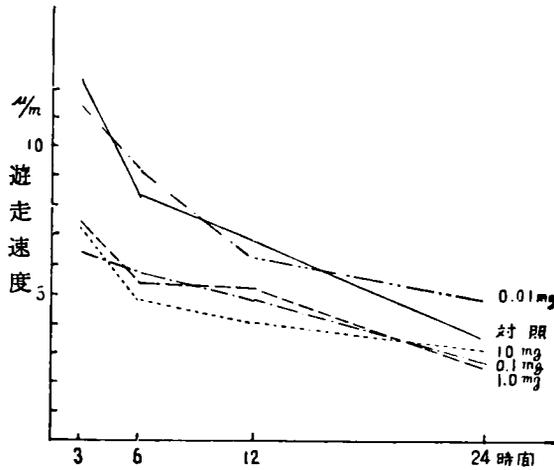


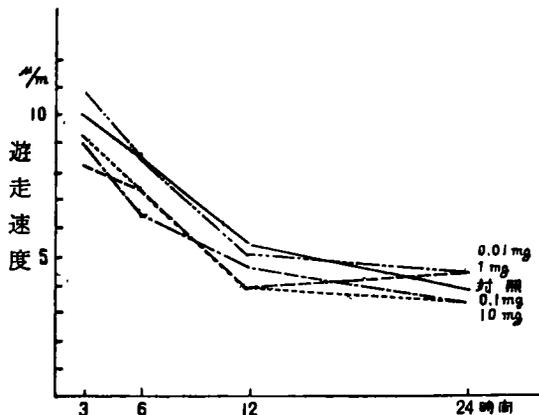
表14 大腸菌毒素添加, 好中球遊走速度 (人間)
No. 115

時間	3	6	12	24
対 照	11.8	7.9	6.0	2.5
10 mg/cc	10.8	8.5	4.5	0.6
1 "	8.8	11.3	3.4	2.6
0.1 "	9.2	8.9	4.7	2.9
0.01 "	13.9	8.4	4.7	4.9

No. 116

時間	3	6	12	24
対 照	8.2	9.1	4.7	5.2
10 mg/cc	7.6	6.2	3.1	7.1
1 "	7.6	3.4	4.3	6.2
0.1 "	8.5	4.0	4.5	3.7
0.01 "	7.9	8.5	5.3	3.8

図14 大腸菌毒素添加, 好中球遊走速度 (人間)



第3節 腸チフス患者血清の家兎骨髓培養に及ぼす影響について。

表15に示すような臨床像をもつて居る腸チフス患者の血清を圧搾液と同量を家兎骨髓培養に添加し、対照には健康人血清を同じく滴下して、腸チフス患者血清の骨髓内偽好酸球遊走速度に及ぼす影響を観察した。

表15 実験に供した腸チフス患者の臨床像

患者名	病日	血液像	臨床像
竹○	26日	血色素 89% 赤血球数 414万 白血球数 4000 (7500)	体温 39.5°C 脈搏 90/分 肝脾腫 (+) グイダール: 800×(+) 血液中: 腸チフス菌(+)
赤○	13日	血色素 64% 赤血球数 357万 白血球数 8300	体温 37.5~39.0°C 脈搏 100~120/分 肝脾腫 (-) グイダール800×(+) 便中: 腸チフス菌(+)

() 内数字は恢復後

1) 竹○の血清添加例では対照に比し20%~40%低値を示し、中等度に遊走機能を抑制する因子を認めた。(表16, 図15)

2) 赤○の血清添加例では対照に比し10%程度の低下を見るのみで大した影響はみられなかった。(表16, 図15)

表16 腸チフス患者血清添加, 遊走速度 (家兎偽好酸球)

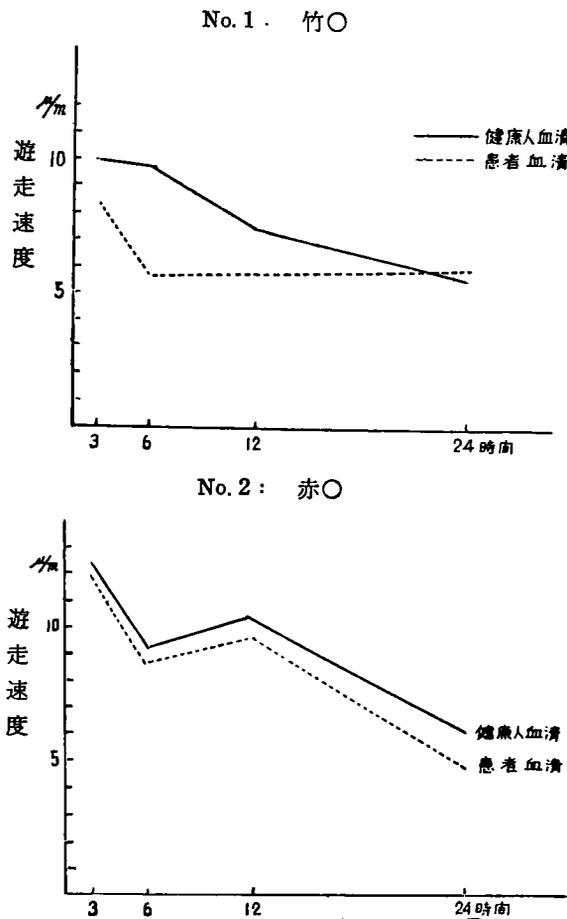
No. 1: 竹 ○

時間	3	6	12	24
健康人血清	10.0	9.7	7.4	5.3
患者血清	8.2	5.6	5.8	6.0μ/m

No. 2: 赤 ○

時間	3	6	12	24
健康人血清	12.4	9.2	10.4	6.0
患者血清	11.9	8.6	9.7	4.8

図15 腸チフス患者血清添加：家兎偽好酸球遊走速度



第4章 総括並びに考按

以上私は教室考案の骨髓体外組織培養法を応用して、腸チフス菌、パラチフス A, B 菌毒素並びに大腸菌毒素の骨髓内主要白血球（人では好中球、家兎では偽好酸球）の三機能（遊走機能、墨粒貪喰能、生体染色性）に及ぼす影響を観察し、比較検討したので、以下実験成績を総括して考按を述べる。

1) 遊走機能について

先ず私の得た実験成績を総括して見るに、健康家兎骨髓内偽好酸球の遊走速度に及ぼす影響については、細菌毒素の高濃度（10 mg/cc）の3時間値で腸チフス菌毒素：平均 $7 \mu/m$ （対照の $6/10$ ）、パラチフス A 菌毒素：平均 $6.4 \mu/m$ （対照の $6/10$ ）、パラチフス B 菌毒素平均 $10.5 \mu/m$ （対照の $8.7/10$ ）、大腸菌毒素：平均 $11.6 \mu/m$ （対照の $10.7/10$ ）である。一方低濃度では腸チフス、パラチフス A 菌毒素は有意なる影響を与えないが、パラチフス B 菌毒素、大腸菌毒素は軽度の亢進を示す。以上より健康家兎骨髓内偽好酸球遊走速度に対する抑制作用は腸チフス、

パラチフス A 菌毒素が最強で、パラチフス B 菌毒素、大腸菌毒素の順になっている。

次に健康人骨髓内好中球遊走速度に対しては、家兎骨髓内偽好酸球遊走速度に対する影響と全く同じ傾向を示す。即ち健康人骨髓内好中球遊走速度に対する抑制作用は腸チフス菌毒素が大腸菌毒素に比して強い。

扱て白血球の運動機能についての文献を繙いて見るに、1845 Wharton Johnes がエヒの白血球にアメーバ様の運動のあることを認めたと始まり、その後 Schilling⁶⁹⁾, Levaditi et Muttermilch⁸²⁾, M. Mc Cutcheon⁶²⁾, Henderson⁷⁸⁾, E. v. Philipsborn⁸⁸⁾⁸⁹⁾, 杉山²⁹⁾, 植木⁸⁾, 山下⁵⁵⁾, 小野田¹⁴⁾, 渡辺⁵⁸⁾等多数の業績に接するが、そのうち感染症の血液細胞の遊走速度についての研究では、嘗つて E. v. Philipsborn⁸⁸⁾⁸⁹⁾ が初めて急性伝染病患者について実験して、白血球遊走速度はすべて低下するとのべている。その後立松³⁷⁾ は腸チフスの稽留期及び弛張期には白血球の遊走機能は甚しく障碍されるが、下熱期には寧ろ健康時より同遊走機能は亢進すると述べている。又加登・北川¹⁹⁾ も立松³⁷⁾ と同様の結果を報告し、臨床所見よりも遙かに確実に経過を診定し得ると述べている。大川¹²⁾ も同様の結果を報告し、腸チフス菌毒素は白血球毒であると述べている。

以上は何れも末梢血液についての研究であるが、骨髓内白血球の運動性については Foot⁶⁴⁾, Grossmann⁷²⁾, 原⁴⁴⁾, 河島²⁰⁾ 等が組織培養法で観察しているが、遊走機能については記載がない。そして感染症の骨髓内白血球の遊走速度についての研究は極めて少く井上⁶⁾ の業績を見る程度で、同氏は急性伝染病（腸チフス、赤痢、脳膜炎等）の骨髓内好中球の遊走機能を観察して、軽症例では正常値に近く、重症例では著明に低下していると述べている。更に同氏は腸チフスワクチンを健康家兎に静注して、骨髓内好中球の遊走速度は著明に低下するとのべている。

以上諸家の研究は何れも超生態観察によるものであり、又生体内で細菌毒素の働いた後の血液及び骨髓を観察したものであつて、細菌毒素が直接骨髓内細胞に如何ように作用するかについて詳しく実験したものは全く見当たらない。処が私の実験は細菌毒素対骨髓内細胞との関係を生態観察により長時間に亘つて、而も定量的に観察したもので全く新しい試みであり、この点は極めて意義深いものと思う。

腸チフス症の重症例及びその極期には体内の毒素

量は当然多く、その力価も強く、一方本症の軽症例や恢復期には毒素量は少く又力価も弱いものと想像されるから、私の前記実験成績より井上⁶⁾及びその他諸家が認めて居る腸チフス症の極期に於ける白血球の遊走機能低下には本毒素の骨髓内白血球に対する直接の抑制作用が大きな役割を演じて居るものと思われる。

次に井上⁶⁾、立松³⁷⁾等は感染症の好中球遊走速度を観察して、病気の種類による好中球遊走速度の差異は認められないとのべている。又板倉³⁾は葡萄球菌ワクチン、大腸菌ワクチンを家兎に注射して、又加登¹⁷⁾、山下⁵⁵⁾等は腸チフス菌、大腸菌、葡萄球菌を家兎に感染せしめて、その血液中の偽好酸球遊走速度を観察しているが、何れも菌種による差異は認められないとのべているが、私の実験では前述の如く菌種による態度の違いを証明することが出来た。之は一つには諸家の実験では生体内で細菌毒素が働いた後の血液、骨髓を観察しているの、生体内の複雑な防禦機転がこの間に関与しているものと思われ、又一つには私の実験のように諸条件を一定にして定量的に観察することが出来なかつたものと思われる。

次に腸チフス患者血清中に健康家兎骨髓内偽好酸球遊走機能の抑制因子を認め、更に末梢血液の白血球減少度の強いもの程この抑制作用も強いことを認めた。即ち腸チフス患者血清中には細菌毒素も含んで居るであろうから、その毒素の影響も考えられるが、その他の血清中の諸物質（二次的に発生した生体反応因子も含む）の影響も除外するわけに行かない。しかし何れにしても、以上の実験を総合すると少くとも腸チフス菌毒素は生体内に於ても直接骨髓に働いて好中球の遊走速度を低下せしめる事が充分に考えられる。

2) 墨粒貪喰能について

私の実験成績を総括して見るに、健康家兎骨髓内偽好酸球の墨粒貪喰能に及ぼす影響については、腸チフス菌毒素の高濃度（10.1 mg/cc）では対照に比し墨粒貪喰能は低下し、爾余の濃度では墨粒貪喰能の稍々亢進せる像を認めた。又パラチフスA菌毒素では10 mg/ccの濃度のみで墨粒貪喰能の低下を認め、爾余の濃度では対照と同等か軽度の機能亢進の像を認めた。次にパラチフスB菌毒素及び大腸菌毒素では高濃度（10 mg/cc）に於ても墨粒貪喰機能は低下せず、対照と有意の差はなく、爾余の濃度では

寧ろ墨粒貪喰機能の亢進像を認めた。以上より墨粒貪喰能に対する抑制作用は腸チフス菌、パラチフスA菌、次いでパラチフスB菌、大腸菌毒素の順に弱くなっている。そして興味あることは或る低濃度では機能亢進の像を認める事である。

扱て伝染性疾患の墨粒貪喰能については Met-schnikoff⁸⁵⁾の研究以来沢山の業績を見ることが出来る。Schaeffer-Hieber⁹⁸⁾、E. v. Philipsborn⁸⁹⁾、Grunke⁷⁴⁾、島田²⁷⁾、加登¹⁸⁾、橋⁴²⁾等は急性伝染病の末梢白血球の墨粒貪喰能を観察して、有熱期には低下し、恢復期には正常に復すととのべている。又糸井⁴⁵⁾、Galinowski⁶⁹⁾は感染症の骨髓内白血球の墨粒貪喰能について観察し、その最盛期には機能低下を認めている。更に大賀¹¹⁾、板倉³⁾等は細菌の生菌及びワクチンを動物に注射して、その末梢白血球の墨粒貪喰能を観察して何れもその機能低下を認めている。

以上諸家の実験は何れも超生態観察によるものであり、尚細菌毒素が生体内で働いた後の血液や骨髓を観察したものである。そこで私は教室角南³⁰⁾の方法に則り、骨髓培養によつて生態観察をなし、骨髓内白血球墨粒貪喰能に及ぼす細菌毒素直接の影響を研究した次第である。

先ず腸チフス菌毒素の影響について糸井⁴⁵⁾、Galinowski⁶⁹⁾は腸チフス症の骨髓内白血球の墨粒貪喰能について観察して、その有熱期には墨粒貪喰能は低下するとのとべており、又 Schaeffer-Hieber⁹⁸⁾、Philipsborn⁸⁹⁾等の末梢血液の観察に於ても同様の結果を報じているが、私の実験成績に於ても腸チフス菌毒素の高濃度は健康家兎骨髓内偽好酸球の墨粒貪喰能を強く抑制する処より、諸家の認めた本症白血球の墨粒貪喰能低下には腸チフス菌毒素の骨髓内白血球に対する直接の抑制作用が大きな役割を演じているものと考えられる。

次に菌種と墨粒貪喰能の関係については、Galinowski⁶⁹⁾、Schaeffer-Hieber⁹⁸⁾、E. v. Philipsborn⁸⁹⁾、Grunke⁷⁴⁾、糸井⁴⁵⁾等は伝染病の種類と墨粒貪喰能との間には何等差異を認めていない。同じく大賀¹¹⁾、板倉³⁾等も動物実験に於ても菌種による違いを見出していない。が私の実験成績では前述の如く健康家兎骨髓内偽好酸球の墨粒貪喰能に対する抑制作用は腸チフス菌毒素が最も強く、パラチフスA菌毒素が之に次ぎ、パラチフスB菌毒素、大腸菌毒素の順に弱くなっている。之は遊走速度の項で述べたと同じ理由に基くものと考えられる。

次に墨粒貪喰能の亢進像についてはGalinowski⁶⁹⁾, Philipsborn⁹⁰⁾は感染症の恢復期には健常時より亢進すると述べ、Philipsborn⁹⁰⁾は同恢復期には、時には亢進し、時には減退するとのべている。又 Schaeffer-Hieber⁹⁸⁾は墨粒貪喰能の亢進せる場合には予後良好であると述べている。之に反して、糸井⁴⁵⁾, 島田²⁷⁾, 加登¹⁸⁾, Grünke⁷⁴⁾等は感染症の恢復期には正常値に復するが、亢進像は認められないとのべている。感染症の恢復期には以上の二説があるが、私の実験成績では前述の如く細菌毒素の或る低濃度では明らかに墨粒貪喰能の亢進像を認めた。従つて私の成績のみからみると、感染症の恢復期には低濃度の毒力に基く白血球墨粒貪喰能の亢進の可能性も考えられる。

3) 生体染色性について

私の実験成績を総括して見るに、健康家兎骨髓内偽好酸球の生体染色性に及ぼす影響について、腸チフス菌毒素の高濃度 (10.1 mg/cc) では早期に高度に染色し、12時間前後から対照より、より褪色す。一方 0.01 mg/cc では生体染色度は対照より低値を示す。パラチフス A 菌毒素の高濃度 (10 mg/cc) では早期に高度に染色し、対照より早期に褪色するが、爾余の濃度では寧ろ低値を示す。次にパラチフス B 菌及び大腸菌毒素では、10 mg/cc でも対照と同じ傾向を示し、爾余の濃度では寧ろ低値を示す。

扱て生体染色については周知の如く清野²²⁾によつて大成されたが、骨髓の組織培養による生体染色については Grossmann⁷²⁾, Weissmann¹⁰²⁾等の断片的業績をみるのみである。勿論感染症の血液細胞の生体染色についての研究は全く見当らない。教室田村³⁸⁾は骨髓体外組織培養法を応用して生体染色について系統的研究をなし、その遊走機能、墨粒貪喰機能との関係を検討して新境地を開いた。私はこの田村³⁸⁾の方法に則り、細菌毒素の骨髓内白血球の生体染色に及ぼす影響を観察した次第である。

而して田村³⁸⁾は骨髓内白血球の機能 (遊走機能、墨粒貪喰能) の活潑な時は白血球の顆粒の中性紅に対する染色性が低下するとのべている。又同氏は白血球機能が低下している場合は森田⁵³⁾の染色の逆理論により即ち塩基性色素の細胞膜透過性の亢進と好塩基顆粒の機能低下による反撥力低下に基き早期に高度に染色し、又この色素嗜好顆粒が色素毒性によつて早期に破壊される結果早期に褪色するとのべている。

この田村³⁸⁾の理論と私の実験成績とを照し合せて見ると腸チフス菌毒素の高濃度では細胞機能の低

下を意味し、低濃度では細胞機能は稍々亢進しているようである。次にパラチフス A 菌毒素では腸チフス菌毒素の場合と略々同じ結果となり、大腸菌毒素では寧ろ生体染色性は低く、森田⁵³⁾, 田村³⁸⁾の云う如く細胞機能の亢進を意味している。そして之等は墨粒貪喰能に於ける結果に一致し、又その高濃度に於ける生体染色の成績は遊走機能に於ける結果に一致している。

第5章 結 論

私は腸チフス、パラチフス A, B 並びに大腸菌毒素を健康家兎骨髓組織培養に添加して偽好酸球の遊走速度、墨粒貪喰能及び中性紅による生体染色に対する影響を、次に腸チフス、大腸菌毒素を健康人骨髓組織培養に添加して好中球の遊走速度に対する影響を、更に腸チフス患者血清を健康家兎骨髓組織培養に添加して偽好酸球の遊走速度に対する影響を追求して、次の結論を得た。

1) 健康家兎骨髓内偽好酸球遊走速度、墨粒貪喰能に対する抑制作用は、腸チフス、パラチフス A, パラチフス B 菌毒素の順に弱くなり、大腸菌毒素には殆んど認められない。又各細菌毒素の或る低濃度では墨粒貪喰能の亢進を認める。

2) 腸チフス、大腸菌毒素の健康人骨髓内好中球遊走速度に及ぼす影響と健康家兎骨髓内偽好酸球遊走速度に及ぼす影響には差異を認めない。

3) 家兎骨髓内偽好酸球の生体染色に及ぼす影響に於てもその墨粒貪喰能、遊走速度に対すると同じく、腸チフス、パラチフス A, B, 大腸菌の順に細菌毒素の細胞機能に対する障害作用が弱くなっている事を示している。

4) 以上より腸チフス菌毒素は直接骨髓に働いて好中球、偽好酸球の細胞機能を障害し、パラチフス菌毒素も之に次で障害するが、大腸菌毒素は障害作用が殆んどないことが明白になった。

5) 腸チフス患者血清中に家兎骨髓内偽好酸球の遊走速度を抑制する因子を認める。

擧筆するに当り終始御懇篤な御指導御校閲を賜つた恩師平木教授並びに大藤助教授に深甚なる謝意を表します。

(本論文の要旨は昭和33年日本血液学会第20回総会に於て発表した)

Influences of Toxins of Salmonella Typhi, Salmonella Paratyphi
A, B, and Escherichia Coli on Bone-Marrow Tissue Culture

Part 2. Influences of toxins of *S. typhi*, *S. paratyphi* A, B, and *E. coli*
on pseudoeosinophils in the rabbit bone marrow and on neutro-
phils in the human bone marrow —the wandering velocity,
carbon-particle phagocytosis, and vital staining—

By

Kiyoshi Motokura

Department of Internal Medicine Okayama University Medical School
(Director: Prof. Kiyoshi Hiraki)

By loading toxins of *S. typhi*, *S. paratyphi* A, B, and *E. coli* to the bone-marrow tissue culture of normal rabbits the author observed the influences of these toxins on the wandering velocity, carbonparticle phagocytosis, and vital staining by neutral red, and next by loading toxins of *S. typhi* and *E. coli* to the bone-marrow tissue culture of normal persons studied the influences on the wandering velocity of neutrophils; and still further by adding the serum of the patient with typhoid fever to the bone-marrow tissue culture of normal rabbits pursued the influences on the wandering velocity of pseudoeosinophils; and obtained the following results.

1. The inhibitory action of these toxins on the wandering and carbon-particle phagocytosis decreases in the order of that of *S. typhi*, *S. paratyphi* A and *S. paratyphi* B, and the toxin of *E. coli* has hardly any such action. In addition, each of these toxins at a certain concentration accelerates the carbon-particle phagocytosis.

2. There can be recognized no difference between the action of toxins of *S. typhi* and *E. coli* on the wandering velocity of the neutrophils in the bone marrow of normal persons and the same on the wandering velocity of the pseudoeosinophils in the bone marrow of normal rabbits.

3. The influences exerted on the vital staining of the pseudoeosinophils in the bone marrow of normal rabbits are exactly identical with those on the carbon-particle phagocytosis and the wandering velocity, and the intensity of inhibitory action of these toxins on the cell functions decreases in the order of *S. paratyphi* A, B, and *E. coli*.

4. From these it has been clarified that the toxin of *S. typhi* acts directly on the bone marrow and disturbs the cell function of neutrophils and pseudoeosinophils; and likewise the toxin of *S. paratyphi* A and B impairs these functions to the degree next to that of *S. typhi*; whereas the toxin of *E. coli* has hardly no such inhibitory action.

5. In the serum of the patient with typhoid fever there can be recognized a factor that inhibits the wandering velocity of pseudoeosinophils in the bone marrow of normal rabbits.
