

感染病に於ける宿主臓器の生理学的観察

岡山大学医学部微生物学教室（指導：村上栄教授）

神 内 数 義

〔昭和34年9月14日受稿〕

目 次

1. 緒 言	実験成績
2. その1 <i>Sal. typhi murium</i> 接種マウスの肝及び脾における観察 実験材料及び実験方法 実験成績	4. その3 <i>Ectromeria virus</i> 接種マウスの肝脾における観察 実験材料及び実験方法 実験成績
3. その2 <i>R. tsutsugamushi</i> 接種マウスの肝脾における観察 実験材料及び実験方法	5. 考 按
	6. 結 論

1. 緒 言

感染の問題には微生物側では菌力、病原性、侵襲性、また宿主側では感受性、抵抗性、免疫、体質、生理的条件等が関連して来る。最近では宿主側の条件が大きな問題となり、感染とホルモンの関係等が取り上げられている。更に又、微生物対宿主細胞間の代謝と感染との関係も重要視されている現状であり、宿主側細胞の生理的变化は感染成立、免疫理論の追求にも直結し、更にはそれら感染病の治療面にも関連するものである。宿主側の変化としては既に一般症状又は組織学的追求がなされ、又生化学的な面からの追求も多くなされている。

近年放射性同位元素が Tracer として Hevesy¹⁾、Chiewitz²⁾ 等を嚆矢として医学生理学に利用されるに至り、生体内代謝過程の動的観察が容易にしかも確実なものとなつて来た。これらの観察方法を感染宿主の生理研究面に利用した例は主として P³² が用いられており、堀田³⁾ による Dengue 熱ウイルス感染マウスの脳における磷代謝の研究、平本⁴⁾、長田⁵⁾ 等による実験的脳炎の研究、教室田辺⁶⁾ の実験的流行性肝炎マウスにおける肝の磷代謝の研究等が存する。かくの如き今までの研究はウイルス感染動物における研究が主体をなしている。著者はこの度先賢の行つた P³² による磷代謝の動的観察にならつて、各種微生物感染による宿主臓器における代謝面の変化を追求せんとした。即ち動物にはマウスを選び、

これに感受性ある微生物として細菌では *Sal. typhi murium*、リケッチアでは *R. tsutsugamushi*、ウイルスでは *Ectromeria virus* を選んで、実験的感染症を起さしめ各病日を追つて P³² による肝、脾の各隣分面の代謝を追求し、各病原体にそれぞれ傾向を異にする成績を得たので、組織学的な所見と並行して検討を行つた。

2. その1 *Sal. typhi murium* 接種マウスの肝、脾における観察

実験材料及び実験方法

実験動物：体重 15g 前後の可及的一定せる健康白色マウス（雑系）を使用した。

供試病毒及び接種法：当教室保存の *Sal. typhi murium* を普通寒天培地にて純化せしめて後、約 0.001mg を白色マウスの腹腔内に接種を行う。（継代毎に普通寒天に培養し、*Sal. typhi murium* の存在を確かめた）この継代を 4 回以上行つて後、普通寒天に培養し集落より集菌して生理的食塩水で 2 mg/20 cc の浮游液を作り、10⁻³ 稀釈のものを供試マウスの腹腔内に 0.3cc 宛接種した。

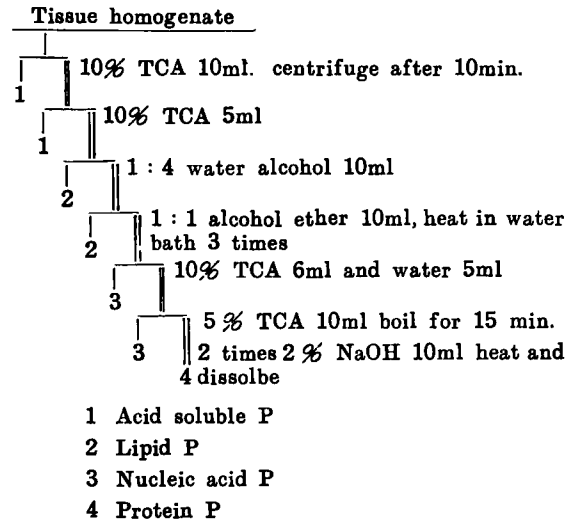
放射性磷（P³²）及び使用方法：使用した P³² は英国原子力会社より配布せられたもので化学的組成は H₃PO₄ である。使用に当つては生理的食塩水で適当に稀釈し NaOH 液で pH を 7.2 に修正し滅菌後利用した。

稀釈は $10 \mu\text{c}/\text{cc}$ なる様にし、一匹当り 0.3cc を腹腔内注射した。

実験方法

供試ウイルスを腹腔内接種後3日及び5日を選んでマウス（一実験例3匹使用）に P^{32} 液を注射し、 P^{32} 注射後12時間の動行を見るために処定時間後マウス頸動脈を切断後放血致死せしめて肝及び脾を取り出す。尚対照群としてウイルス無接種群として健康マウスに P^{32} のみ注射を行つた。取り出した臓器は直ちに冷生理的食塩水にて充分洗滌後濾紙にて水分を除き、所要量を正確に秤量し Schneider 法⁸⁾ に従つて酸溶性磷分劃、脂質磷分劃、核酸磷分劃、蛋白質磷分劃に分つた。

表1 Methods of Phosphorus Fractionation (Schneider's method)



かくして得た分劃をキエルダールコルベンに入れ硫酸法により湿性灰化した。灰化後蒸留水で稀釈し大部分は P^{32} count 測定に供し、 $1/10 \sim 1/20$ 量を正確に分ちこれは磷比色定量に供した。

P^{32} count 測定には試料をアンモニア中和後、Mg. mixture を加え磷マグネシアアンモンの沈澱とし、counting cup に吸引濾過して平面的に集め、G-M 管で測定を行う。3分量計測を行い自然計数を減じた後に、臓器 1g 当りの count 数に換算し表示した。

磷定量は Allen 法⁹⁾ により比色定量を行つた。即ち試料に HClO_4 水溶液 2cc Amidol 液 2cc モリブデン酸液 1cc を順次加え、 $20 \sim 25^\circ\text{C}$ の水浴中に 20 分保つて直ちに比色を行う。比色は島津製 AKA 光電比色計 5号 D型を使用しフィルターは L_1 を用いた。この場合の比色定量値も試料 1g 当りに

換算し表示した。

実験成績の表し方

前述の如く単位重量当りの count (P^{32} incorporation) 及び γ (磷の絶対量) を求めたる後、更に磷の交替率を窺うために Specific activity を求めた。

$$\text{SA} = \text{count}/\gamma$$

又 Lipid P 以下への P^{32} incorporation は Acid soluble P を経て incorporate するとして Lipid P 以下の SA の Acid soluble P の SA に対する比即ち RSA を求めた。

$$\text{RSA} = \text{SA}/(\text{SA of acid soluble P}) \times 10$$

別に各実験毎余分の臓器はホルマリン固定を行い組織切片を作製して病理所見の観察を行つた。

実験成績

既述のウイルス接種法を行つたマウスに於ける毒力に死亡日数分布にて表示すると第2表の如くである。

表2 Lethality after agent inoculation

Days after agent inocul.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
lethality	0	0	1	0	1	3	5	4	1	0

表2に示す如く大体6日以後に死亡するものが大半であるので、かかる攻撃群より無撰択的にマウスを取り出し、一実験例毎に3匹を用いて P^{32} を注射し、12時間後に肝、脾を取り出し、poolして磷分劃実験を行つた。

肝に於ける成績は表3に示す如くである。

P^{32} の count 数のみについて Control と比較してみると incorporation が各分劃とも著明に昂進している。又これに反して $\text{P}-\gamma$ 量は多くは減少の傾向にある。よつて SA について control と比較すると何れの分劃においても交替率の上昇を強く認める結果となり、3病日、5病日を比較すると Acid soluble P は3病日において高く、他の分劃においては5病日の方が高い成績を得た。更に Acid soluble P. に対する他の RSA に就いて検討すると Lipid P は3病日に於いては低下しており5病日においては normal と著差はない。Nucleic P は3病日においても高く更に5病日においては強く上昇した成績を得た。Protein P は3病日においては低下しており、5病日には上昇した成績を得た。

次に脾における成績は表4の如くである。この場合も P^{32} の incorporation は control に比して各

表3 Phosphorus metabolism on liver of *Sal. typhi murium* inoculated mice.

Days after agent inoculation (day)		3	5	control
Acid soluble P	count	6368	8422	3620
	γ	476	756	674
	SA	13.3	11.1	5.4
Lipid P	count	5342	9126	4000
	γ	610	890	828
	SA	8.7	10.3	4.8
	RSA	6.5	9.2	8.6
Nucleic acid P	count	2300	2664	737
	γ	692	756	764
	SA	3.3	3.5	1.1
	RSA	2.5	3.2	2.0
Protein P	count	1166	2116	846
	γ	524	604	702
	SA	2.2	3.5	1.2
	RSA	1.7	3.2	2.2

分割共病期を問わず増大している。SA についてみると Acid soluble P において特に高い P の交替率を示し normal 2.9 に対して 3 病日で 9.5 5 病日で 8.1 の値を得た。又 Lipid P, Protein P においてもかなり高い交替率を認め、Nucleic acid P においては control 1.2 に対して 3 病日で 4.1, 5 病日で 3.1 の値を得た。RSA において検討すると Acid soluble P が control に比して著明に高いために各分割共 RSA は normal に比して低く、僅かに Nucleic P, Protein P の 3 病日においてやや高い値を得たのみであった。

次にこれら実験に供した感染マウスの肝と脾との病理組織学的所見を観察した。肝においては 3 病日では肝実質が強い変性に陥り、又一般に類洞, Disse 氏腔が拡大している。肝細胞自身は萎縮が強く、核は濃縮性となつて、原形質は混濁し、微細な空胞を形成しているものがある。又星芒細胞は部分的に強い増殖を示し結節状となり、細胞自身も腫大している。又実質の不定の場所に散在性又は一部集団性に円形細胞, 多形核白血球が浸潤し、又一部の血管に血栓形成が見られることがある。更に 5 病日に至ると類洞の拡張はそれ以上に高度とならないが肝全体は充血性で実質内の不定の場所に大小の限局性壊死巣が認められ、中心部は肝細胞が壊死又は類壊死に陥り淡染し、これに多形核白血球, 円形細胞が多数浸潤している。その他これら細胞は一部グリソン氏

表4 Phosphorus metabolism on spleen of *Sal. typhi murium* inoculated mice

Days after agent inoculation (day)		3	5	control
Acid soluble P	count	8385	8663	3842
	γ	883	1016	1332
	SA	9.5	8.1	2.9
Lipid P	count	4526	4684	2690
	γ	694	1016	1110
	SA	6.5	4.6	2.4
	RSA	6.8	5.7	8.3
Nucleic acid P	count	3842	1574	1284
	γ	928	508	103
	SA	4.1	3.1	61.2
	RSA	4.3	3.8	4.1
Protein P	count	5124	2337	2142
	γ	1140	1016	1780
	SA	4.6	2.3	1.2
	RSA	4.8	2.8	4.1

鞘にも現われる。又肝細胞は全体からみて、病巣以外の部分でも混濁して現われ、多少の変性像がみられる。

脾における所見は 3 病日において濾胞が萎縮性で濾胞の細網組織が略中心部で浮腫状に腫大し、染色性を減じて類壊死の所見を示す。

又赤髄は充血性であるが脾洞内には単核球と好中球が浸潤している。5 病日になると更にこれらの所見は程度を増し、脾洞が強く拡張して、単核球が高度に浸潤し、所々に壊死がみられるようになる。

3. その2 *R. tsutsugamushi* 接種マウスの肝, 脾における観察

実験材料及び実験方法

実験動物 その1 (*Sal. typhi murium*) の場合と同様である。

供試病毒及び接種法 香川県東部において村上等が分離し本教室に保存している恙虫病リケッチャ三谷株を供試した。接種法としては恙虫病リケッチャ感染発症マウスの肝及び脾混合 20% 乳剤の 0.3ml を健康マウスの腹腔内に接種す。

放射性磷 (P^{32}) 及び使用法 その1 (*Sal. typhi murium*) の場合と同様である。

実験方法 供試病毒を腹腔内接種後、3日、5日及び7日を選んでマウスに P^{32} を注射し、12時間

後の肝, 脾における磷分割合は, その1の場合と同様である。

実験成績

既述の方法によつて *R. tsutsugamushi* (三谷株) を接種した場合におけるマウスは7~8日にて立毛し, 跪坐を示し次第に重篤なる症状を示し, 瀕死の状態となつて10~12日斃死する。又7~8日頃に腹腔所見を窺うと, 何れも粘穢性を帯びた腹腔液の滯溜と脾腫が認められ, giemsa 染色された塗抹標本では類上皮細胞の原形質内に *Rickettsia* 様小体が認められる。*R. tsutsugamushi* 接種においては接種後致死に至る迄の期間が10日以上であるので3病日, 5病日, 7病日を選んで実験を行つた。

先ず肝における磷代謝の成績は表5に示す。Acid

表5 Phosphorus metabolism on Liver of *R. tsutsugamushi* inoculated mice

Days after agent inoculation (day)		3	5	7	control
Acid soluble P	count	3764	4204	5768	4242
	γ	635	640	773	600
	SA	5.9	6.6	7.5	7.1
Lipid P	count	4016	5032	5947	5116
	γ	690	787	586	720
	SA	5.8	6.6	10.1	7.1
	RSA	9.8	10.0	13.5	10.0
Nucleic acid P	count	1100	1437	1137	988
	γ	619	733	735	720
	SA	1.8	2.0	1.5	1.4
	RSA	3.0	3.0	2.0	2.0
Protein P	count	816	1055	905	974
	γ	438	426	362	420
	SA	1.9	2.5	2.5	2.3
	RSA	3.2	3.8	3.3	3.2

soluble P についてみると P^{32} count 数は3病日ではやや低下し, 5病日では control と変わらず7病日でやや増加しており, P- γ 量は control に比してやや増加する傾向にある。この両者より求めた SA においては3病日では control 7.1 に比して 5.9 と低く, その後病日を追つて上昇し, 7病日で 7.5 となる。Lipid P においても P^{32} count 数は3病日で低く, 7病日で増加し P- γ 量は5病日でやや高く現われ, 他は変わらないがやや低下する傾向にある。SA についてみると3病日, 5病日では低く現われ,

7病日では control 7.1 に比して 10.1 と上昇する。Nucleic acid P では P^{32} count 数は全期を通じて上昇しており, P- γ 量は3病日においてのみやや低く, 他は著差を認めない。SA については3病日, 5病日では何れも上昇して特に5病日では著明である。Protein P は P^{32} count 数においては3病日, 7病日で低く, 5病日においてやや高い成績を得た。P- γ 量は7病日においてのみやや低下している。SA は3病日において低く5, 7病日では僅か上昇した成績を得た。更に Acid soluble P の SA に対する他の RSA を求め検討すると Lipid P においては control 10 に対して7病日で 13.5 と上昇しており Nucleic acid P は control 2.0 に対して 3, 5病日共に 3.0 とかなり上昇している。Protein P においては全期を通じてあまり変わらず5病日においてやや上昇した成績を得た。

次に脾における成績は表6に示した Acid soluble

表6 Phosphorus metabolism on Spleen of *R. tsutsugamushi* inoculated mice

Days after agent inoculation (day)		3	5	7	control
Acid soluble P	count	3437	2916	2790	3790
	γ	530	572	494	730
	SA	6.6	5.1	5.7	5.2
Lipid P	count	1568	1760	1884	2726
	γ	466	612	494	731
	SA	3.4	2.9	3.8	3.7
	RSA	5.2	5.7	6.6	7.1
Nucleic acid P	count	1457	1145	1621	1958
	γ	350	327	395	731
	SA	4.2	3.5	4.1	2.7
	RSA	6.4	6.9	7.2	5.2
Protein P	count	3863	6052	4063	2920
	γ	1165	1673	1332	1080
	SA	3.3	3.6	3.0	2.7
	RSA	5.0	7.1	5.3	5.2

P においては P^{32} count 数は一般に低下し, 又 P- γ 量も減少している。SA については3病日でやや上昇する成績を得ている。Lipid P においても P^{32} count 数, P- γ 何れも control に比して著明に減少し, SA においても全期を通じて低く, 特に初期に低い値を得た。Nucleic acid P においても P^{32} count 数, P- γ 量も低下するが, 後者の低下度の方が大であるので SA については全期を通じて上昇した結果を得た。

Protein P に於いても P³² count 数, P-γ 量は control に比して高く現われ特に 5 病日では最も高い値を得た。RSA については 5 病日においてのみ 7.1 (control は 5.2) と高い値を示した。

上記 P³² 使用の代謝系の追求と併行して 3, 5, 7 病日の肝, 脾の組織学的所見を観察した。

まず肝における所見であるが 3 病日においては所により肝細胞の配列が乱れ, 肝細胞の原形質に軽度空胞形成を認めるものが少数あり, 又所々単一細胞類壊死, 乃至は壊死を示すものがある。更に一部の肝細胞では原形質が濃染し又は淡明網状に現われ, 核は濃縮性であり又核破砕を認めるものがある。一般に細胞の浸潤は少いが, 所々円形細胞が少数不規則散在性に浸潤する。5 病日に至ると肝細胞索に乱れを生じて, 全般的に細胞変性の傾向が認められる。即ち肝細胞は萎縮性に現われる部分が多くなり又原形質に空胞を生じて淡明にみられるものが増加し, 核の周囲には浮腫状の明るい空隙が認められる。又所々多形核白血球, 円形細胞の浸潤がみられ, この部分では星芒細胞の増殖を伴っている。全般的に浮腫が 5 病日の特徴となる。

次に 7 病日に至ると更に病変が強くなり, 一部では小さい限局性壊死が起り, この部では肝細胞は萎縮消失し, 代りに星細胞が増殖する。細葉内の所々に単一細胞壊死巣を認め, これら肝細胞の一部はマロリー小体として現われる。

次に脾における所見であるが 3 病日では殆んど変化が認められない。5 病日においても未だ著明な変化に乏しく, 赤髄の軽度な充血或は赤髄又は濾胞内細網細胞の軽度の増生を認めるに過ぎない。7 病日においては赤髄は中等度の充血を呈し, 濾胞内白血球は減少して, 赤髄又は濾胞内の細網細胞が軽度に増生するが壊死を認めない。脾洞内に稀にエオジン嗜好細胞が少数集合して現われ, 又巨細胞が可成り多数出現している。

4. その3 Ectromeria Virus 接種マウスの肝, 脾における観察

実験材料及び実験方法

実験動物: 体重 18g 前後の可及的一定せる健康白色マウス (雑系) を使用した。

供試ウイルス及び接種法: 当教室保存の Ectromeria virus (Hampstead 株) を供試した。

本供試ウイルスを腹腔内接種せる罹患マウスの肝を取り出し Homogenizer を用いて乳剤とし, 10⁻³ 稀釈

乳剤を作成して 0.3ml 宛マウス腹腔内に接種した。

放射性磷 (P³²) 及び使用方法

その 1 の場合と同様である。

実験方法

供試ウイルス腹腔内接種後 2 日, 4 日を選んで P³² を腹腔内に注射し 12 時間後屠殺して肝, 脾を取り出し, その 1 の場合と同様分割法を行った。

実験成績

既述のウイルス接種法を行ったマウスにおける一般症状は 2~3 日で元気がなくなり立毛し, 不安状態となり 5~6 日で死亡するものが多い。よつて著者はこの場合は生化学的及び病理組織学的な検討は発病初期としてウイルス接種後 2 病日, 及び極期として 4 病日を選んで行った。

P³² を用いて肝における磷代謝を追求した成績は表 7 に示す如くである。P³² の count のみについて

表 7 Phosphorus metabolism on liver of Ectromelia virus inoculated mice

Days after agent inoculation (day)		2	4	control
Acid soluble P	count	4678	4820	3383
	γ	630	348	526
	SA	7.4	13.9	6.3
Lipid P	count	5390	5638	3306
	γ	795	619	690
	SA	6.3	9.1	5.0
	RSA	9.2	6.5	8.0
Nucleic acid P	count	1080	1086	404
	γ	400	522	307
	SA	2.7	2.1	1.3
	RSA	3.7	1.5	2.1
Protein P	count	1267	1154	810
	γ	510	348	479
	SA	2.5	3.3	1.7
	RSA	3.4	2.4	2.7

観察を行うと 2 病日, 4 病日何れの場合においても又どの分割においても control に比してかなり昂進しており, 特に Nucleic acid P において大である。SA について個々につき詳細に検討すると, Acid soluble P においては 2 病日でやや高く, 4 病日では 2 倍にも昂進している。Lipid P においては 2 病日でやや高く, 4 病日では遂に低下している結果を得た。Nucleic acid P においては control 2.1 に対

して2病日で3.1, 4病日では2.1とかなりの昇進を認める事が出来る。又 Protein P においても control 1.7に対して2病日で2.5, 4病日で3.3と昇進している。

更に Acid soluble P に対する他の分割の RSA を求め検討した。これによると Acid soluble P の4病日の SA 13.9と高い値を示している為4病日における各分割の RSA control より低い値を得た。しかし2病日においてはいつれの分割の RSA も control より大であり、特に Nucleic acid P における RSA は著明に大であった。

次に脾における成績は表8に示す如くである。こ

表8 Phosphorus metabolism on spleen of Ectromelia virus inoculated mice

Days after agent inoculation (day)		2	4	control
Acid soluble P	count	13365	8590	7520
	γ	1088	715	927
	SA	12.3	12.0	8.1
Lipid P	count	8348	8646	7345
	γ	734	1072	1210
	SA	12.5	8.1	6.4
	RSA	10.0	6.7	7.9
Nucleic acid P	count	7500	8584	4733
	γ	725	1340	1252
	SA	10.4	6.4	3.7
	RSA	8.5	5.3	4.6
Protein P	count	4678	4749	3900
	γ	1450	1338	1344
	SA	3.2	3.6	2.9
	RSA	2.6	3.0	3.6

の場合においても P^{32} count 数は何れの病期何れの分割においても control より大である。SA について control と対比すると次の如くである。Acid soluble P においては何れの病期においても control の1.5倍の値を得た。Lipid P においては control 6.4に対し2病日には12.5, 4病日に8.1と上昇している。Nucleic acid P においてはその上昇度が他に比して極端に大であつて control 3.7に対して2病日10.4, 4病日6.4という値を得た。Protein P においては両病日共その上昇度は僅かであつた。RSA について検討を行うと control との差が著明に認められなくなるが、Lipid P の2病日においてやや高く、Nucleic acid P においては2病日では8.5

(control は4.6), 4病日では5.3と昇進しており、他の場合は対照に比して低下を示した。

次に2病日, 4病日における肝, 脾の病理組織学的所見を併行して追求した。

肝における所見は2病日においては実質内に瀰漫性に好中球, 円形細胞等の浸潤がみられるが軽度である。尚一部これらが集簇性に現われて境界不規則な小結節形成を示す処もみられた。肝細胞自体は萎縮性で空胞の形成が著明なものが多数出現し、核は一部のもので核水腫を示している。又実質内において星芒細胞が瀰漫性に軽度な増殖を示す。4病日においては円形細胞, 好中球の浸潤が中等度に現われる。これらは実質内に瀰漫性に浸潤する他, 大小の境界鋭利な病巣として散在性に現われるものがあり、後者では限局性壊死乃至壊死巣を形成する。斯る病巣内では肝細胞が消失して好中球, 円形細胞におきかわり、又残存する肝細胞も原形質が混濁している。又特に肝細胞のおかされ方の少い部では修復機点として二核性細胞の出現、又は巨大核の出現をみる。星芒細胞は瀰漫性にかなり増殖している。

次に脾における所見としては2病日においては赤髄の充血及び出血が認められ、赤髄内及び濾胞内細胞の軽度な増生がみられ、又濾胞内リンパ球の動員を認めるが未だ壊死巣は認められない。4病日に至ると赤髄の著明な充血及び出血が明かに認められ、脾洞は拡張して洞内に遊走細胞が増加し赤血球貪食像が著明にみられる。又濾胞は萎縮し、一般に細胞が瀰漫性に増殖して、一部に於いて巣状の類壊死を形成する。

5. 総括及び考按

感染症がなり立つか否かは、宿主の防禦機構と、これに対抗する寄生体の侵入力、定着力、増殖力の相互干渉によつて定まる。かくして感染症が惹起された場合には宿主側には全身的な生化学的変化とまでは至らなくても、少くとも寄生体の増殖する局所においては一定の生化学的変化がおきていることは想像に難くない。感染局所に炎症性変化がおきた場合血管の痙攣や閉塞、遊走細胞の浸潤等の為血流が妨げられて嫌氣的になり乳酸の蓄積、pH 低下等が起り、又局所細胞の破壊、逆に再生等がおきた場合は強い代謝異常が起ることになる。かくの如き寄生体と宿主との相関関係の一端を把握する目的をもつて宿主側に惹起された生化学的変化を機代謝の面より追求し、病理組織学的な所見と平行して検討

した。

生化学的に磷代謝を検討するために各臓器とも Schneider 法によつて Acid soluble P, Lipid P, Nucleic acid P, Protein P の四分割に分ち、分割後の試料を定量的に大部分は磷比色定量に供試し(表中 γ で示した)同一試料のものを用い $\text{count}/\gamma = \text{Specific activity}$ を求める事により、複雑な分割操作による誤差を少なくする様留意した。更に著者は Acid soluble P の SA に対する Lipid P 以下の SA の比を求め Relative specific activity とした。RSA を求める場合は流血中の $P^{32}/(P^{32}+P^{31})$ の SA に対する方法等が存するが注射された P^{32} は速かに吸収されて各臓器に至り無機磷は速かに有機磷酸エステルに合成されて短時間の内に無機磷及び有機磷の比放射能は等しくなる事を Lindberg 等が報告しており、この説に立脚して各臓器における酸溶性磷(この中には無機磷も含まれている)に対する RSA を求め検討した。Chaikoff¹⁰⁾, Dawson¹¹⁾, 中沢¹²⁾ 等も同様、脂質磷以下の RSA を酸溶性磷に対する比をもつて表わしている。

Sal. typhi murium をマウス腹腔内に接種した場合菌は速かにリンパ管、血管等を経由して肝及び脾に到達する事は教室中島¹³⁾ が P^{32} を Tracer として実験を行つている。菌はそれ等臓器内に定着し強い増殖を示し、宿主側にも強い変化を蒙る。この場合の組織学的変化は成績に述べた如く肝においては3病日において既に肝実質が変性に陥り、肝細胞索は細く網眼状となつて、正常な場合にみられる細胞が密に並んだ実質性臓器としての面影は失われ、強い侵襲を受けていることを示している。肝細胞自身も全体的に強い変性を受け、各種細胞の浸潤像も認められている。病期が進むと壊死巣が多数出現して来、強い破壊作用を受けている。代謝上の変化を詳細に考察すると P^{32} の incorporation は強く上昇しているが、 $P-\gamma$ 量は減少を来しており、組織学的な破壊像を示すものの如くである。SA より交替率を検討すると何れの場合においても強い昇進を示しており、組織学的所見と考え合せて強い破壊がある一方合成面も強く昇進しているものと考えられる。しかしこの SA の昇進の状態はすべての分割において強く上昇しており、強い炎症々状による破壊と再成による非特異的な昇進像ではないかとも考えられる。RSA を求め検討すると Lipid P 及び3病日の Protein P においては control より低く Acid soluble P の増加の割には昇進がみられない。然し Nucleic

acid P の全期を通じ又 Protein P の5病日ではかなり昇進像がみられ、これらの分割における代謝昇進は一層確実なものと考えられる。

次に脾における所見では髓質に類壊死の像を呈するのが主体で、又単核球等の高度の浸潤を認める。磷代謝の面では肝におけると同様、何れの分割においても非常に P^{32} count 数が増加している。これに反して磷定量値は殆んどの場合に低下し、特に Protein P における磷定量値は強く減少しているが、これ等は髓質の類壊死、壊死等の所見と合致するものであろう。SA を求めると control との差は更に著明となり総ての分割、総べての病期において磷の交替率は上昇していることが判つた。特に Acid soluble P における SA が強く上昇(約3倍)している為に RSA を求めると肝におけると同様 control との差は少くなりむしろ RSA の低く現われる分割が多い。

肝、脾におけるこれらの磷代謝の促進は Sal. typhi murium が特に親和性臓器としてこれ等の臓器に侵入定着し、増殖を示す為の強い炎症性変化の当然の結果考とえられる。

次に R. tsutsugamushi 接種を行つたマウスについての実験を行つた。Rickettsia の特性としては偏性細胞内寄生性を有する事であり、親和性臓器内の血管を囲む上皮細胞平滑筋線維内又は実質細胞内に侵入し定着、増殖を示す。R. tsutsugamushi は細胞内寄生を示す場合は必ず細胞質内に存在し、核の辺縁部に定着増殖する¹⁴⁾。しかも Rickettsia tsutsugamushi 寄生の宿主細胞側の変化であるが、教室仁熊¹⁵⁾の電子顕微鏡観察によれば Rickettsia の多数認められる細胞はむしろ変性が低く空胞変性の高度な細胞においては寧ろ Rickettsia の数の少いことを観察し、正常な細胞に好んで感染増殖し、その細胞の変性と共に細胞外に遊離し、次の正常細胞に入ると述べている。これらの事より考えると Rickettsia 寄生宿主細胞との相関関係は非常に密接な関係がある。

Rickettsia tsutsugamushi 接種マウスにおける肝の病変は Sal. typhi murium の時と比較して極めて軽度であり進行も緩徐である。初期においては所々に単一細胞壊死、壊死巣を認めるものがあり、細胞浸潤も極めて軽度である。病期が進むと細胞変性像が強くなり核の周囲に浮腫状の変化が現われ、遂には所々に限局性壊死巣が生じて来る。

これに対して磷代謝の面の観察結果では、Nucleic acid P のみは全期を通じて高く現われ、其の他の分割では3病日、5病日では control より低く7病日では

高く現われる。SA に就いて交替率を見ると Acid soluble P, Lipid P の 3, 5 病日, Protein P の 3 病日では control より低く, その後は control よりやや高い傾向にあるが, 全般的に著明な差ではない。しかし Nucleic acid P に於ては 3, 5 病日は control より高く現われている。RSA についてみても略同様の傾向にある。これらの点より考察すると Rickettsia 感染肝においては 3 病日～5 病日頃の Rickettsia が盛んに増殖する時期においては病理所見も著明ではなく単一細胞壊死又は浮腫状変化の程度であり, 燐代謝は Nucleic acid を除いてはやや低下する傾向にある。Zinsser¹⁶⁾ 等が組織培養でリケッチャ増殖が盛んに見られる病期には細胞の呼吸作用は殆んど止つていと報告し, Greiff¹⁷⁾ が鶏胎児における R. prowazeki の増殖は 32°C という宿主の代謝の低い時に盛んであり, 又細胞代謝率をおさえるシアン化物を加えると増殖が促進されると報告しているが, つまり宿主細胞内のリケッチャの増殖は細胞代謝の極めて低い時に主として起るとい得る。著者の行つた R. tsutsugamushi の実験においても初期において盛んに増殖することが考えられ, この時期における燐代謝は control より低く現われている。但し Nucleic acid のみは代謝昂進を示しているがこれは Rickettsia が DNA を大量に含み¹⁸⁾, しかも偏性細胞内寄生性を有していることから充分考えられる。後期に至ると総ての分割において control より代謝昂進を示しているが, これは一定度リケッチャが増殖した後は広範な炎症々状が伴う為に代謝昂進が起るのであり, この時期には Rickettsia の増殖は不必要となり起つていないのではないかと推量される。

次に脾においても病理所見は著明ではなく亦脾髄, 濾胞内細網細胞の軽度の増生があり, 病期が進むと巨細胞の増生等がみられる程度であるが, 燐代謝面に於いても著明な変化は認められない。肝におけると同様 Nucleic acid においては全期を通じて代謝昂進を示すが, 他の分割では 3～5 病日では control より僅かに低い傾向にあることが窺われる。脾においても初期の Rickettsia 増殖と組織代謝低下が関聯するものと思考される。

次に Ectromeria virus に就いては — 一般にウイルスは寄生性が他病原微生物に比して更に高度と考えられる為に — 近時 Ectromeria virus 対宿主細胞の相互作用に関して電子顕微鏡を用いて詳細な研究がなされており, 形態学的に本 virus の宿主細

胞内発育様式が把握された。

宿主細胞内に入つた virus は一時形を消失して, 細胞質内に matrix を形成し, その中に未熟ウイルスが形成される。一方生化学的な代謝面の研究も奥山¹⁹⁾ によつてなされ, 潜伏期において RNA が増加, 又コハク酸々化酵素の活性昂進も認められている。

拙著者の行つた Ectromeria virus 感染増殖せるマウス肝における病変は 2 病日においては細胞浸潤が軽度のみられ, 肝細胞自体は萎縮し空胞変性等がみられる程度であり, 4 病日に至ると細胞浸潤が強くなり, 肝細胞の限局性壊死がみられる様になるが何れにしても形態学的破壊像等は弱い。かかる場合の燐代謝の面を考察すると Acid soluble P においては control に比して昂進している。これは堀田⁴⁾ がデング熱について又教室田辺⁷⁾ が実験的流行性肝炎において血管壁の透過性が高まり Acid soluble P の代謝昂進を来すことを論じているが, 著者の場合初期においては大した昂進は認められず, 4 病日に至つて 2 倍以上に及ぶ交替率の増加を認めているが, これが単なる血管壁の透過性変化によるものかどうかは断定し難い。その他の分割における交替率の変化は Nucleic acid P において特に著明であつた。特に 2 病日における変化は control の 1.3 に対して 2.7, RSA 2.1 に対して 3.7 と著明な代謝昂進で, かかる変化は核酸を主成分とするウイルスの細胞内寄生のために, 細胞固有の核蛋白とウイルス—matrix の核蛋白への準備, 利用の為に代謝昂進を認めたものとする。又 Protein P においても control に比して交替率の上昇を認めているが Nucleic acid における程強くないが, 星芒細胞の増生又は肝細胞の一部に修復機点等が認められる為かかる結果を得たものと思う。

次に脾においては 2 病日では充血と細網細胞の軽度の増生が見られ, 4 病日に至ると壊死巣が認められる様になる。これに対する燐代謝の面は肝における成績と傾向は全く似ており, Acid soluble P の代謝昂進も非常に著明であり 2 病日においては約 3 倍の SA を示していることはウイルス病の特異性を示すものと考えられる。

6. 結 論

感染病を理解する上に, 病原微生物と宿主との相関関係を追求することは特に重要な事であり, 宿主側細胞の生理的变化の一面を知る目的をもつて実験

を行つた。病原微生物としては *Sal. typhi murium*, *Rickettsia tsutsugamushi*, *Ectromeria virus* を供試して、これ等を感染せしめたマウスの肝、脾における磷代謝の各病日を追つて追求した。実験方法は P^{32} を Tracer として Schneider 法による臓器の磷分劃を行つて、各分劃における磷代謝の動的観察を行つて病理組織学的変化と併行して検討し次の結果を得た。

1. *Sal. typhi murium* 感染マウスの肝、脾においては3病日、5病日共に総ての磷分劃における代謝昂進が認められ、その変化はリケッチャ病、ウイルス病等に比して非常に高度のものであつた。

2. *R. tsutsugamushi* 感染マウスの肝、脾においては3、5病日の初期では Nucleic acid P 以外の分劃では代謝の低下を認め、7病日においては弱い

代謝の昂進を認めた。Nucleic acid P のみは全期を通じて特に3、5病日において代謝昂進を示していた。

3. *Ectromeria virus* 感染マウスにおいては2病日、4病日の実験を行つたが Nucleic acid P 分劃において特異的な代謝昂進を示し、他の分劃においても代謝昂進は認められるが Nucleic acid P 分劃に比すれば問題にならなかつた。

稿を終るに臨み、種々御指導並びに御校閲を賜つた恩師村上栄教授に深甚の謝意を表し又実験に際し種々御援助下さつた金政講師、山本、藤田氏に感謝致します。尚御助言を頂いた病理学教室小川講師に衷心より謝意を表します

文 献

- 1) Hevesy, G.: Z. Anorg. Chem., **82**, 322, 1913.
- 2) Hevesy, G.: Biochem. J., **17**, 433, 1923.
- 3) Chiewitz, O. & Hevesy, G.: Nature, **136**, 754, 1935.
- 4) 堀田, 藤井, 田辺: Virus, **2**, 101, 1952.
- 5) 平木, 長田: 東京医事新誌, **71**, 135, 1954.
- 6) 長田: 日本内科学雑誌, **44**, 17, 1955.
- 7) 田辺: 岡山医学会雑誌, **71**, 1575, 1959.
- 8) Schneider, W. C.: J. Biol. Chem., **161**, 293, 1945.
- 9) Allen, R. J. L.: Biochem. J., **34**, 858, 1940.
- 10) Chaikoff, I. L. Physiol. Review, **22**, 291.
- 11) Dawson. R. M. C.: Biochem. J., **55**, 507, 1953.
- 12) 中沢, 岳中, 北郷, 毛利, 宮崎: Radioisotopes, **3**, 2, 1954.
- 13) 中島: 岡山医学会雑誌, **71**, 印刷中, 1959.
- 14) 牛田: 岡山医学会雑誌, **70**, 173, 1958.
- 15) 仁熊: 岡山医学会雑誌, **71**, 2685, 1959.
- 16) Zinsser, H. & Schoenbach, E. B.: J. Exp. Med. **66**, 207, 1937.
- 17) Greiff, D.: The Rickettsial diseases of man, A. A. A. S. Washington.
- 18) Smith, J. D. & Stacker, M. G. P. Br. J. Exp. Path.: **32**, 433, 1951.
- 19) 奥山: 札幌医誌, **11**, 10, 1956.

Patho-Biochemical Findings on the Organs of Pathogenic Microorganism Infected Animal

By

Kazuyoshi JINNAI

Department of Microbiology, Okayama University Medical School
(Director: Prof. Sakae MURAKAMI)

As to comprehend the infectious disease, it seems to be very important to elucidate the interrelationship between the causable pathogenic microorganism and the host. In order to know the patho-biochemical changes of the cells of infected animal, the author carried out

the investigation, in which the phosphorus metabolism were studied on the liver and the spleen of the infected mouse at day's interval from the infection. *Sal. typhi murium*, *Rickettsia tsutsugamushi* and *Ectromeria virus* were used as the pathogenic microorganisms for this study. The phosphorus metabolism was measured by means of P^{32} incorporation into each phosphorus fraction of the organs of the animal tested that were fractionated by Schneider's method and was considered comparing with the changes found on the histology. The following results were obtained.

1) Compared with the phosphorus metabolism of each phosphorus fraction on the liver and the spleen of the rickettsia or virus-infected mouse, these metabolism on that of *Sal. typhi murium*-infected mouse were found to be highly accelerated at the 3rd or the 5th days of infection.

2) In the case of the phosphorus metabolism on the liver and the spleen of *R. tsutsugamushi*-infected mouse, the metabolism of the phosphorus fractions except nucleic acid P were found to be decreased at the 3rd and 5th days of infection, but were slightly accelerated at the 7th day. However, the metabolisms of nucleic acid P were found to be accelerated throughout all the examinations, especially at the 3rd and 5th days.

3) On the *Ectromeria virus*-infected mouse the phosphorus metabolism was measured at the 2nd and the 4th days of infection. The metabolism of nucleic acid P fraction showed specifically very prominent acceleration, but that of the other fractions did not accelerated except only slight acceleration.
