

細菌感染の骨髓造血機転に及ぼす影響に関する研究

—主として骨髓組織培養による—

第 2 編

各種化膿性球菌感染家兎骨髓の偽好酸球機能の変化に就て

岡山大学医学部平木内科教室（指導：平木 潔 教授）

内 藤 孝 和

〔昭和34年6月22日受稿〕

内 容 目 次

第1章 緒 言

第2章 実験材料及び実験方法

第1節 実験材料

第2節 実験方法

第3節 観察方法

第3章 実験成績

第1節 緑連菌連続注射の場合

第2節 緑連菌死菌，溶連菌，黄葡萄菌及び白葡萄菌
注射の場合

第4章 総括及び考按

第5章 結 論

第1章 緒 言

前編に於て私は各種化膿性球菌による感染家兎の骨髓に於ける造血状況を、主として骨髓の体外組織培養法を用いて検索し考按を加えたが、本編では同一骨髓に於ける白血球機能の面、即ち骨髓偽好酸球の遊走速度、墨粒貪喰能、中性紅生体染色性等の変化を骨髓組織培養を通じて検討した結果を報告する。

抗生物質の発見以前には、感染症は人類への大きな恐威であつた為、Davaine が人白血球の運動性を記載し、Metschnikoff が白血球貪喰能を研究し或は又 Arnold が超生体染色法を考按して以来、感染に際しての生体の防禦力を察知し、或はその予後を判定しようとする目的で、白血球機能に関する検討は感染症を中心として多数行われてきた。先ず、感染症患者或いは感染動物に関して白血球遊走速度を調べた者には、Philipsborn⁵⁶⁾、山下⁸⁰⁾、大川⁵⁸⁾、大原⁵²⁾、板倉²⁵⁾等多数あり、各々その立場から感染と白血球遊走速度との関係を追求しており、又、墨粒貪喰能に関しても Philipsborn⁵⁵⁾、山下⁸⁰⁾、水木⁴⁰⁾、山内⁷⁰⁾、田上⁶⁷⁾、大原⁵²⁾、板倉²⁵⁾、大賀⁵¹⁾等により或は臨床的に或は又実験的に検討が重ねられて、多くの知見が齎されている。生体染色性に関しては、之を白血球機能と結びつけて感染時白血球に就き検討した文献

は見当らないようである。茲に注意すべき事は、之等白血球機能相互の関係である。前記諸家の研究にあつては、山下⁸⁰⁾を除きいずれも一つの材料に関して遊走か貪喰かの一方のみを検するに止まつて、両機能が如何なる関連性を持つものか或いは全く別個に変化する機能であるかは検討せられていない。この点、横山⁸¹⁾は各種疾患に関して経過を追つて同時に両機能を測定して、全く別の機能であるとしているが、前述の3機能に関して更に詳しく検討比較してみる事は有意義な事と考えられる。次に、前記諸家の研究はいずれも感染症における末梢白血球に就いての研究であつて、造血臓器たる骨髓に於て新たに産生されつつある白血球が、感染に伴ない如何様な機能の変化を蒙るかを検査する事は非常に興味深い事と考えられるが、従来この方面に於ける研究は実に乏しいと云わねばならない。僅かに井上²⁴⁾が、感染症患者骨髓及びチフスワクチン注射家兎骨髓に就き白血球遊走速度を調べて機能低下を報告し、又、Galinowski¹²⁾、糸井²⁶⁾が感染症患者の骨髓内白血球に就いて貪喰能の低下を述べている程度である。

白血球機能の判定上に重大な影響を与える因子には種々のものが考えられ、白血球自身の変化や、貪喰試験での被貪喰物や、又、生体染色試験での染色色素の性状は勿論の事であるが、白血球を包む環境の影響が重

大である事は容易に想像せられる所であり、従つて de Haan¹⁸⁾は貪喰能により細胞の生命力を判定するには標準環境での同一被貪喰物を用いての実験に限ると述べ、又 Philipsborn⁵⁵⁾もその貪喰試験に於て、環境である血清を変える事による機能の変化を検討しているわけである。この様な意味に於ては、後述する教室考案の組織培養法は、骨髓内白血球の機能判定上に於て非常に秀れた方法と考えられるものであり、私はこの方法を用いて、既に前編で述べたと同じ感染家兎の骨髓内偽好酸球に就いて、前述の3機能を感染経過を追つて検索し、之を感染家兎の全身状態及び末梢血液所見並びに骨髓造血状況等と併せ検討して一定の成績を得たので報告する。

第2章 実験材料及び実験方法

第1節 実験材料

(1)実験動物 (2)使用細菌及び感染方法 (3)培養組織 (4)ヘパリン加血漿、並びに (5)鶏胎圧搾液等前編と全く同一なので記述を省略する。

第2節 実験方法

緒言でも触れた様に、培地の条件を重視して、実験の度毎に、同一の血漿及び圧搾液を用いて健康家兎骨髓につき培養を行つて対照とした。

(1)骨髓偽好酸球遊走速度：杉山氏法を改良して組織培養に応用した教室亘理⁷⁴⁾の方法に従つて、逐時的に白血球の形態を描画した。培養方法は前編の被覆培養法の項に記述した通りである。

(2)骨髓偽好酸球墨粒貪喰能：教室角南⁶⁶⁾の方法に従い、海野式打抜載物硝子を使用し、墨汁は古梅園製紅花墨をリンゲル氏液中で磨り、濾過後使用した。墨汁濃度は、墨汁液柱5mmで下に置いた白紙上の墨が見え始める所を取つた。次に培養の術式を述べると、予め穴の片面にバルサムで被覆硝子をはり着けた海野式載物硝子の穴の中で、その被覆硝子上にヘパリン加血漿を1滴滴下して直径1.5cmになる様に拡げ、その中央に1mm³程度の小組織片を置いて、その上に上記墨汁を圧搾液と同率に混じたものの2滴を滴下する。添加液は全てマントー注射器(1cc)に $\frac{1}{2}$ 針を附して滴下した。次で被覆硝子を以て穴を覆い、載物硝子との間を極く少量のバルサムを用いて封入後載物硝子を僅かに傾針させて液状成分を被覆硝子面に附着させる。標本はそのままの位置で37°Cの孵卵器に入れて、血漿の凝固を待つて裏返しにして、観察する時には再び元に戻して油浸対物レンズで観察した。

(3)骨髓偽好酸球中性紅生体染色：教室田村⁶⁰⁾の方

法に準じ、染色色素としては0.03%中性紅水溶液を使用した。前編に用いた被覆培養法と全く同じ操作の後、最後に中性紅水溶液を1滴滴下して、その培地濃度が0.01%になる様にした。

第3節 観察方法

(1)身体及び末梢血液の観察

前編に述べた所と全く同一なので記載を省略する。

(2)遊走速度の観察

教室亘理⁷⁴⁾の方法により、Abbe氏描画器を用いて偽好酸球の形態を描き、その重心点の軌跡を30秒おきに求め、1細胞に就き2分間観察して偽好酸球5個を数え、各々の軌跡を曲線計で計測した。之等の平均から更に1分間の骨髓内偽好酸球遊走距離を求めて速度とした。尚遊走速度の観察は培養後3, 6, 12, 24時間目とした。

(3)墨粒貪喰能の観察

貪喰能の強さは教室角南⁶⁶⁾の基準に従い、偽好酸球100個を数えて貪喰率及び平均貪喰度を求めた。家兎偽好酸球の貪喰度は人好中球のそれに比べ甚だ低いので、貪喰度が最も高い増生帯周辺部に関してのみ検査した。貪喰能の観察は培養後3, 6, 9, 12, 24時間目とした。

(4)中性紅生体染色性の観察

染色度の強さは教室田村⁶⁰⁾の基準に従い、偽好酸球100個を数えて平均染色度を求めた。その観察は培養後2, 4, 6, 12, 24時間目である。

第3章 実験成績

身体並びに末梢血液所見は前編に於て詳述した所と全く同一なので、培養所見と併せて簡単に記述する。

第1節 緑連鎖菌連続注射の場合

a) 1回注射後家兎の骨髓偽好酸球機能

末梢血液では偽好酸球増多症があり、既に軽い貧血が生じており、家兎は発熱と共に活気を失なつている。

i) 遊走速度：第1表、第1図に示す様に、3例共培養全経過を通じ対照に比べて軽度の亢進を示し、培養3時間値では平均1.75 μ /m 亢進した。

ii) 墨粒貪喰能：第2表、第2図に示す様に、3例共対照に比較して既に中等度の低下を示した。

iii) 中性紅生体染色：第3表、第3図に示す様に、3例共対照に比較して早期から稍々高度の染色即ち機能低下を示した。

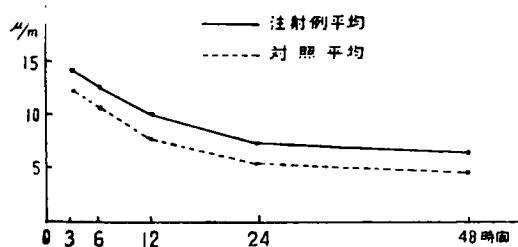
b) 4回注射後家兎の骨髓偽好酸球機能

末梢血液では偽好酸球増多症があり、貧血は進行して、家兎には発熱、体重減少を認め衰弱が加わる。

第1表 緑連菌1回注射後家兎骨髓偽好酸球遊走速度 (単位 μ/m)

家兎	時間	3	6	12	24	48
第1家兎	家兎	12.68	11.38	8.26	7.48	6.74
	対照	12.22	10.93	6.69	4.71	4.35
第2家兎	家兎	13.65	11.33	8.75	7.16	6.52
	対照	10.49	8.83	6.22	5.23	4.62
第3家兎	家兎	15.93	15.02	12.48	8.42	6.68
	対照	14.30	13.33	10.75	6.38	5.42
注射例平均		14.09	12.58	9.83	7.35	6.65
対照平均		12.34	11.03	7.89	5.44	4.80

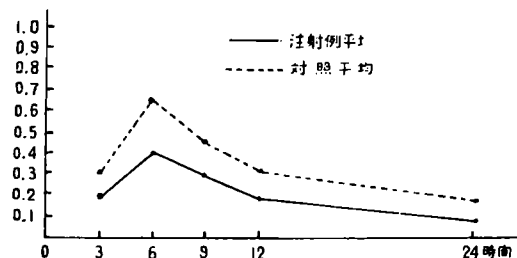
第1図 緑連菌1回注射後家兎骨髓偽好酸球遊走速度



第2表 緑連菌1回注射後家兎骨髓偽好酸球墨粒貪喰能

家兎	時間	3	6	9	12	24
第1家兎	貪喰率	16	25	17	17	8
	平均貪喰度	0.18	0.35	0.23	0.18	0.08
	対照 貪喰率	24	42	33	26	11
	平均貪喰度	0.30	0.70	0.47	0.34	0.15
第2家兎	貪喰率	16	29	21	17	5
	平均貪喰度	0.19	0.35	0.26	0.18	0.05
	対照 貪喰率	21	41	29	24	18
	平均貪喰度	0.28	0.63	0.47	0.32	0.22
第3家兎	貪喰率	17	35	22	15	10
	平均貪喰度	0.21	0.49	0.31	0.22	0.12
	対照 貪喰率	20	44	27	19	13
	平均貪喰度	0.26	0.62	0.35	0.28	0.14
(注射例平均)	貪喰率	16	30	20	16	8
	平均貪喰度	0.19	0.40	0.27	0.19	0.08
(対照平均)	貪喰率	22	42	30	23	14
	平均貪喰度	0.28	0.65	0.43	0.31	0.17

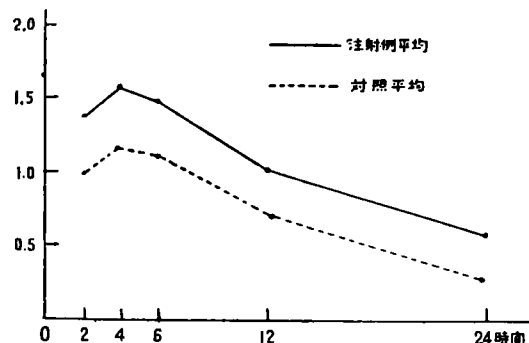
第2図 緑連菌1回注射後家兎骨髓偽好酸球墨粒貪喰能 (平均貪喰度)



第3表 緑連菌1回注射後家兎骨髓偽好酸球中性紅平均染色度

家兎	時間	2	4	6	12	24
第1家兎	家兎	1.42	1.61	1.45	1.04	0.52
	対照	1.01	1.18	1.14	0.58	0.32
第2家兎	家兎	1.54	1.81	1.73	1.04	0.65
	対照	1.07	1.13	1.18	0.78	0.23
第3家兎	家兎	1.15	1.31	1.27	0.95	0.62
	対照	0.93	1.16	1.05	0.74	0.31
注射例平均		1.37	1.58	1.48	1.01	0.60
対照平均		1.00	1.16	1.12	0.70	0.29

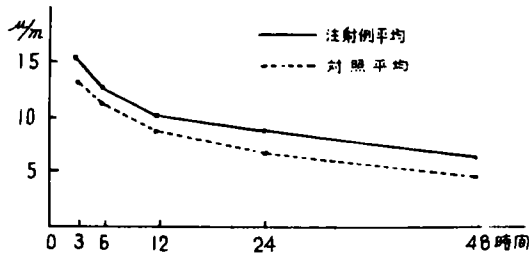
第3図 緑連菌1回注射後家兎骨髓偽好酸球中性紅平均染色度



第4表 緑連菌4回注射後家兎骨髓偽好酸球遊走速度 (単位 μ/m)

家兎	時間	3	6	12	24	48
第1家兎	家兎	12.80	10.35	8.73	7.39	5.55
	対照	11.40	10.50	7.40	3.90	3.60
第2家兎	家兎	14.46	12.56	8.79	7.50	6.43
	対照	12.69	10.30	6.24	5.64	5.55
第3家兎	家兎	16.15	14.07	9.52	5.53	4.76
	対照	12.53	11.38	10.40	4.27	3.78
注射例平均		14.47	12.33	9.01	6.81	5.58
対照平均		12.21	10.73	7.68	4.60	4.31

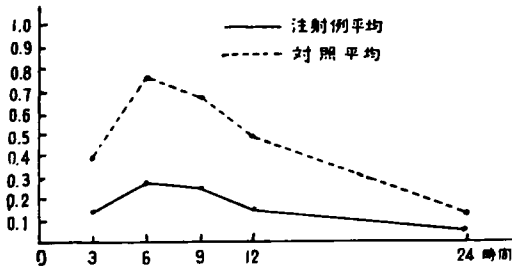
第4図 緑連菌4回注射後家兎骨髓偽好酸球遊走速度



第5表 緑連菌4回注射後家兎骨髓偽好酸球墨粒貪喰能

家 兎	時 間	3	6	9	12	24
第1家兎	貪喰率	12	21	17	11	4
	平均貪喰度	0.19	0.32	0.22	0.15	0.06
対 照	貪喰率	29	59	51	43	15
	平均貪喰度	0.63	0.91	0.78	0.60	0.18
第2家兎	貪喰率	10	19	15	12	5
	平均貪喰度	0.12	0.28	0.23	0.13	0.05
対 照	貪喰率	15	41	37	24	14
	平均貪喰度	0.23	0.67	0.55	0.32	0.15
第3家兎	貪喰率	7	15	11	8	2
	平均貪喰度	0.08	0.21	0.15	0.12	0.03
対 照	貪喰率	18	42	16	30	11
	平均貪喰度	0.28	0.68	0.58	0.51	0.13
(注射例平均値)	貪喰率	10	18	14	10	4
	平均貪喰度	0.13	0.27	0.23	0.13	0.05
(対照例平均値)	貪喰率	21	47	41	32	13
	平均貪喰度	0.38	0.75	0.67	0.48	0.15

第5図 緑連菌4回注射後家兎骨髓偽好酸球墨粒貪喰能(平均貪喰度)



- i) 遊走速度：第4表，第4図に示す様に，3例共対照に比べて軽度の亢進を示し，培養3時間値では平均 $2.26\mu/m$ の亢進を示した。
- ii) 墨粒貪喰能：第5表，第5図に示す様に，3例

共対照に比較して著るしい低下を示し，培養6時間値では平均貪喰度の平均は対照の約 $1/2.8$ に低下した。

iii) 中性紅生体染色：第6表，第6図に示す様に，3例共対照に比較して早期から甚だ高度の染色を示した。

c) 7回注射後家兎の骨髓偽好酸球機能

末梢血液では偽好酸球増多症があり，貧血は著るしいが既にその進行を止めており，全身状態は4回注射後と畧々同様である。

i) 遊走速度：第7表，第7図に示す様に，3例共対照に比べ軽度の亢進を示し，培養3時間値では平均 $1.41\mu/m$ の亢進を示した。

ii) 墨粒貪喰能：第8表，第8図に示す様に，3例共対照に比較して強い低下を示し，培養6時間値では平均貪喰度の平均は対照の約 $1/2.3$ に低下していた。4回注射後の値に比べ幾分軽い。

iii) 中性紅生体染色：第9表，第9図に示す様に，3例共対照に比較して早期から甚だ高度の染色を示したが，4回注射後のものに比較すれば幾分軽度である。

d) 14回注射後家兎の骨髓偽好酸球機能

末梢血液では偽好酸球増多症があり，貧血及び家兎の全身状態は幾分回復の傾向を示している。

i) 遊走速度：第10表，第10図に示す様に，3例共対照に比較して軽度の亢進を示し，培養3時間値では平均 $2.46\mu/m$ の亢進を示した。

ii) 墨粒貪喰能：第11表，第11図に示す様に，3例共対照に比較して可成りの低下を示すが，回復の傾向がうかがわれる。

iii) 中性紅生体染色：第12表，第12図に示す様に，3例共対照に比較して早期から稍々高度の染色を示す。

第2節 緑連菌死菌，溶連菌，黄葡菌及び白葡菌注射の場合

a) 緑連菌死菌4回注射後家兎の骨髓偽好酸球機能

末梢血液では偽好酸球増多症と，極く軽度の貧血が存するが，家兎の全身状態は良好でなる。

i) 遊走速度：第13表，第13図に示す様に，3例共対照と比較して大差はないが，培養3時間値にて注射例平均は対照平均より $1.09\mu/m$ 早かつた。

ii) 墨粒貪喰能：第14表，第14図に示す様に，3例共対照に比較して軽度の低下を示した。

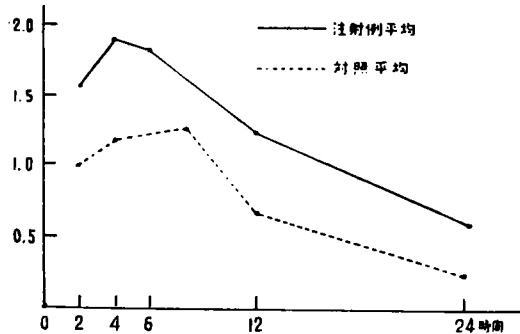
iii) 中性紅生体染色：第15表，第15図に示す様に3例共対照に比較して極く軽度の濃染を示した。

b) 溶連菌4回注射後家兎の骨髓偽好酸球機能

第6表 緑連菌4回注射後家兎骨髓偽好酸球中性紅平均染色度

家兎	時間	2	4	6	12	24
第1家兎	家兎	1.76	1.93	1.84	1.19	0.69
	対照	0.94	1.13	1.20	0.57	0.24
第2家兎	家兎	1.74	1.81	1.89	1.28	0.50
	対照	1.08	1.27	1.28	0.63	0.22
第3家兎	家兎	1.22	1.97	1.78	1.27	0.64
	対照	1.03	1.17	1.30	0.74	0.22
注射例平均		1.57	1.90	1.84	1.25	0.61
対照平均		1.02	1.19	1.26	0.65	0.23

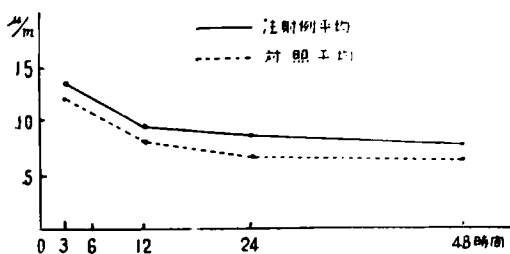
第6図 緑連菌4回注射後家兎骨髓偽好酸球中性紅平均染色度



第7表 緑連菌7回注射後家兎骨髓偽好酸球游走速度 (単位 μ/m)

家兎	時間	3	6	12	24	48
第1家兎	家兎	12.67	11.50	9.88	8.81	6.70
	対照	11.70	10.08	8.50	7.87	7.47
第2家兎	家兎	12.55	11.51	9.36	9.10	9.10
	対照	11.08	10.01	8.67	7.73	7.67
第3家兎	家兎	15.23	13.10	9.75	7.90	6.82
	対照	13.42	11.26	6.86	4.45	3.95
注射例平均		13.48	12.04	9.66	8.60	7.54
対照平均		12.07	10.45	8.01	6.68	6.36

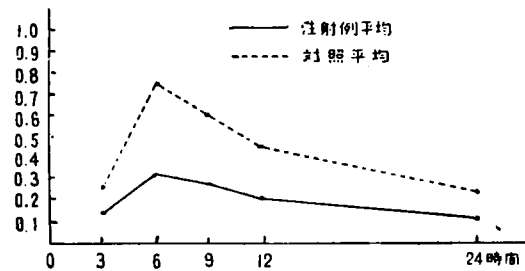
第7図 緑連菌7回注射後家兎骨髓偽好酸球游走速度



第8表 緑連菌7回注射後家兎骨髓偽好酸球墨粒貪喰能

家兎	時間	3	6	9	12	24
第1家兎	家兎貪喰率	14	29	27	22	18
	平均貪喰度	0.18	0.40	0.35	0.28	0.20
対照	貪喰率	26	58	48	39	21
	平均貪喰度	0.40	0.92	0.81	0.63	0.28
第2家兎	家兎貪喰率	9	21	19	13	8
	平均貪喰度	0.12	0.33	0.28	0.18	0.10
対照	貪喰率	13	39	33	20	14
	平均貪喰度	0.17	0.66	0.52	0.32	0.18
第3家兎	家兎貪喰率	7	16	13	11	4
	平均貪喰度	0.09	0.23	0.17	0.14	0.04
対照	貪喰率	17	47	33	25	19
	平均貪喰度	0.21	0.74	0.53	0.38	0.23
(注射例平均)	貪喰率	10	22	20	15	10
	平均貪喰度	0.13	0.32	0.27	0.20	0.11
(対照平均)	貪喰率	19	48	38	28	18
	平均貪喰度	0.26	0.74	0.59	0.44	0.23

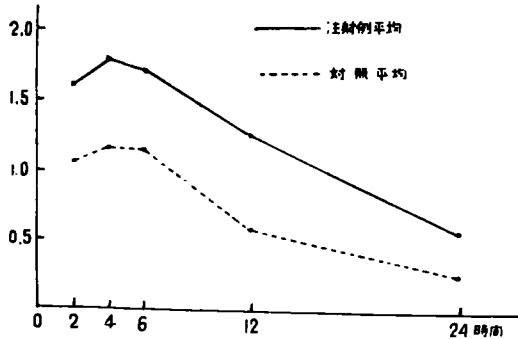
第8図 緑連菌7回注射後家兎骨髓偽好酸球墨粒貪喰能 (平均貪喰度)



第9表 緑連菌7回注射後家兎骨髓偽好酸球中性紅平均染色度

家兎	時間	2	4	6	12	24
第1家兎	家兎	1.52	1.77	1.67	1.32	0.51
	対照	0.93	1.08	0.98	0.55	0.27
第2家兎	家兎	1.65	1.85	1.80	1.21	0.52
	対照	1.14	1.20	1.23	0.61	0.12
第3家兎	家兎	1.63	1.75	1.58	1.23	0.62
	対照	1.12	1.24	1.28	0.60	0.34
注射例平均		1.60	1.79	1.71	1.25	0.55
対照平均		1.06	1.17	1.16	0.59	0.24

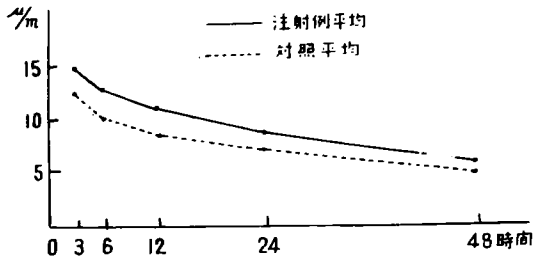
第9図 緑連菌7回注射後家兔骨髓偽好酸球中性紅平均染色度



第10表 緑連菌14回注射後家兔骨髓偽好酸球遊走速度 (単位 μ/m)

家兔	時間	3	6	12	24	48
第1家兔	対照	15.27	13.33	9.87	8.32	7.43
	注射例平均	12.30	10.26	8.40	7.28	6.20
第2家兔	対照	14.30	12.45	11.30	8.95	4.52
	注射例平均	11.79	10.65	8.00	7.32	3.76
第3家兔	対照	14.49	12.84	11.3	8.71	5.32
	注射例平均	12.61	9.62	18.9	7.27	4.88
注射例平均		14.69	12.87	10.83	8.66	5.76
対照平均		12.23	10.18	8.44	7.29	4.95

第10図 緑連菌14回注射後家兔骨髓偽好酸球遊走速度



末梢血液には偽好酸球増多症と強い貧血が認められ、家兔は衰弱を来している。

i) 遊走速度：第16表、第16図に示す様に、3例共対照に比較して軽度の亢進を示し、培養3時間値では平均 $2.23\mu/m$ の亢進を示した。

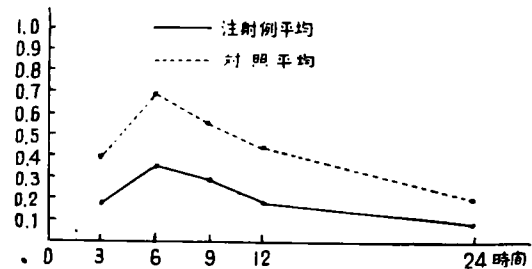
ii) 墨粒貪喰能：第17表、第17図に示す様に、3例共対照に比較して著しい低下を示し、培養6時間値では平均貪喰度の平均は対照の約 $1/2.4$ に低下した。

iii) 中性紅生体染色：第18表、第18図に示す様に、3例共対照に比較して早期から可成り高度の染色を示

第11表 緑連菌14回注射後家兔骨髓偽好酸球墨粒貪喰能

家兔	時間	3	6	9	12	24
第1家兔	貪喰率	14	30	25	15	6
	平均貪喰度	0.19	0.42	0.36	0.21	0.08
対照	貪喰率	27	50	41	34	18
	平均貪喰度	0.44	0.84	0.72	0.68	0.30
第2家兔	貪喰率	9	21	17	9	4
	平均貪喰度	0.12	0.27	0.24	0.15	0.05
対照	貪喰率	18	34	28	19	11
	平均貪喰度	0.28	0.52	0.45	0.32	0.15
第3家兔	貪喰率	20	25	21	15	6
	平均貪喰度	0.24	0.36	0.28	0.19	0.08
対照	貪喰率	37	48	31	25	9
	平均貪喰度	0.48	0.65	0.48	0.32	0.12
(注射例平均)		14	25	21	13	5
平均貪喰度		0.18	0.35	0.29	0.18	0.07
(対照平均)		27	44	33	26	13
平均貪喰度		0.40	0.67	0.55	0.44	0.19

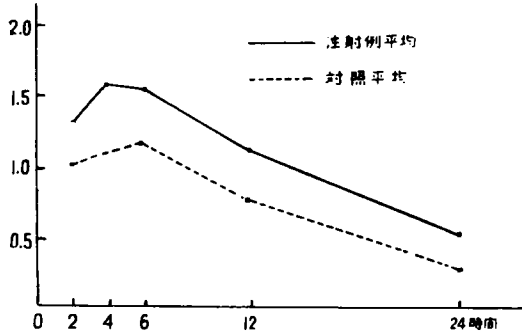
第11図 緑連菌14回注射後家兔骨髓偽好酸球墨粒貪喰能 (平均貪喰度)



第12表 緑連菌14回注射後家兔骨髓偽好酸球中性紅平均染色度

家兔	時間	2	4	6	12	24
第1家兔	対照	1.18	1.53	1.60	1.32	0.20
	注射例平均	0.98	1.08	1.15	0.80	0.31
第2家兔	対照	1.37	1.58	1.41	1.22	0.68
	注射例平均	1.04	1.11	1.18	0.65	0.25
第3家兔	対照	1.36	1.60	1.63	0.85	0.71
	注射例平均	1.02	1.15	1.18	0.73	0.32
注射例平均		1.30	1.57	1.55	1.13	0.53
対照平均		1.01	1.11	1.17	0.76	0.29

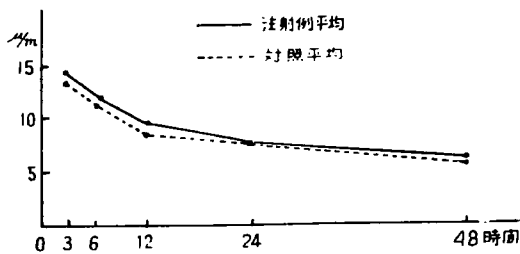
第12図 緑連菌14回注射後家兎骨髓偽好酸球中性紅平均染色度



第13表 緑連菌死菌4回注射後家兎骨髓偽好酸球遊走速度 (単位 μ/m)

家兎	時間	3	6	12	24	48
第1家兎	家兎	14.20	11.46	9.40	7.52	6.33
	対照	13.41	10.30	8.78	7.34	6.21
第2家兎	家兎	14.61	12.90	9.87	7.82	6.23
	対照	13.84	12.71	8.34	6.52	5.46
第3家兎	家兎	14.36	12.18	9.57	7.78	5.27
	対照	13.65	11.46	8.88	7.13	5.32
注射例平均		14.39	12.18	9.61	7.71	5.94
対照平均		13.30	11.49	8.67	7.70	5.70

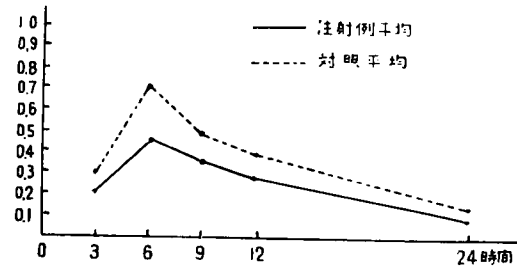
第13図 緑連菌死菌4回注射後家兎骨髓偽好酸球遊走速度



第14表 緑連菌死菌4回注射後家兎骨髓偽好酸球墨粒貪喰能

家兎	時間	3	6	9	12	24
第1家兎	家兎	15	34	27	19	10
	貪喰率	0.21	0.48	0.39	0.28	0.11
	平均貪喰度	0.31	0.72	0.53	0.42	0.18
第2家兎	家兎	22	30	23	19	7
	貪喰率	0.28	0.42	0.31	0.27	0.08
	平均貪喰度	0.37	0.68	0.45	0.35	0.10
第3家兎	家兎	15	32	25	17	8
	貪喰率	0.18	0.51	0.37	0.22	0.08
	平均貪喰度	0.26	0.73	0.45	0.27	0.13
(注射例平均)		17	32	25	18	8
貪喰率		0.22	0.47	0.36	0.29	0.09
(対照平均)		26	46	32	24	9
貪喰率		0.31	0.71	0.48	0.38	0.14

第14図 緑連菌死菌4回注射後家兎骨髓偽好酸球墨粒貪喰能 (平均貪喰度)



第15表 緑連菌死菌4回注射後家兎骨髓偽好酸球中性紅平均染色度

家兎	時間	2	4	6	12	24
第1家兎	家兎	1.16	1.36	1.12	0.85	0.34
	対照	1.03	1.16	1.23	0.68	0.25
第2家兎	家兎	1.12	1.38	1.29	0.74	0.41
	対照	1.01	1.14	1.25	0.59	0.18
第3家兎	家兎	1.08	1.37	1.18	0.75	0.27
	対照	0.95	1.18	1.10	0.63	0.21
注射例平均		1.12	1.37	1.20	0.78	0.34
対照平均		1.00	1.16	1.19	0.63	0.21

した。

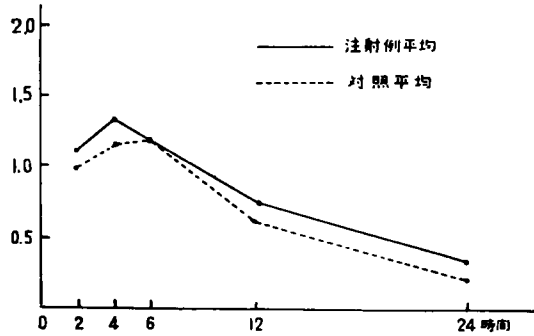
c) 黄葡萄菌4回注射後家兎の骨髓偽好酸球機能

末梢血液には偽好酸球増多症と強い貪食の進行があり、家兎の衰弱が強い。

i) 遊走速度：第19表、第19図に示す様に、3例共対照に比較して軽度の亢進を示し、培養3時間値では平均 $2.07\mu/m$ の亢進を示した。

ii) 墨粒貪喰能：第20表、第20図に示す様に、3例共対照に比較して著るしい低下を示し、培養6時間値では平均貪喰度の平均は対照の約 $1/2.6$ に低下した。

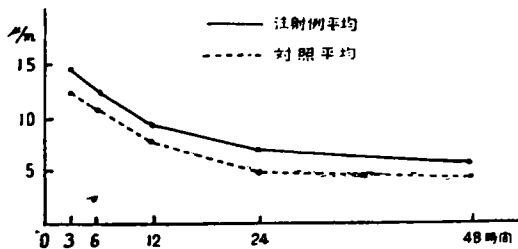
第15図 緑連菌死菌4回注射後家兎骨髓偽好酸球中性紅平均染色度



第16表 溶連菌4回注射後家兎骨髓偽好酸球遊走速度 (単位 μ/m)

家兎	時間	3	6	12	24	48
第1家兎	家兎	15.27	13.14	10.66	9.43	7.56
	対 照	13.35	12.16	9.84	9.06	5.53
第2家兎	家兎	14.78	12.53	10.25	7.69	6.22
	対 照	13.50	11.67	9.13	6.82	5.12
第3家兎	家兎	16.38	12.68	9.88	7.15	6.54
	対 照	13.91	10.12	7.80	5.20	4.30
注射例平均		15.48	12.78	10.30	8.09	6.77
対照例平均		13.25	11.32	8.92	7.03	4.98

第16図 溶連菌4回注射後家兎骨髓偽好酸球遊走速度



iii) 中性紅生体染色：第21表，第21図に示す様に，3例共対照に比較して早期より高度の染色を示した。

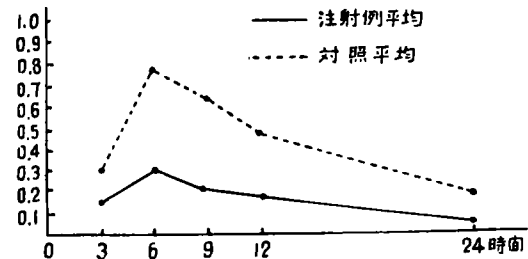
d) 白葡菌4回注射後家兎の骨髓偽好酸球機能末梢血液には偽好酸球増多症と貧血の進行を見，家兎は衰弱を来している。

i) 遊走速度：第22表，第22図に示す様に，3例共対照に比較して軽度の亢進を示し，培養3時間値では平均 $1.90\mu/m$ の亢進を示した。

第17表 溶連菌4回注射後家兎骨髓偽好酸球墨粒貪喰能

家兎	時間	3	6	9	12	24
第1家兎	貪喰率	12	21	17	17	3
	平均貪喰度	0.15	0.30	0.24	0.21	0.03
対 照	貪喰率	24	45	37	28	11
	平均貪喰度	0.35	0.54	0.45	0.31	0.12
第2家兎	貪喰率	12	24	20	15	1
	平均貪喰度	0.12	0.33	0.25	0.18	0.01
対 照	貪喰率	21	43	33	22	12
	平均貪喰度	0.28	0.67	0.49	0.31	0.14
第3家兎	貪喰率	7	15	11	7	3
	平均貪喰度	0.13	0.23	0.18	0.12	0.04
対 照	貪喰率	22	52	37	29	16
	平均貪喰度	0.36	0.87	0.54	0.47	0.20
(注射例平均値)	貪喰率	10	20	16	13	2
	平均貪喰度	0.13	0.29	0.22	0.17	0.03
(対照例平均値)	貪喰率	22	47	37	26	13
	平均貪喰度	0.32	0.69	0.49	0.36	0.15

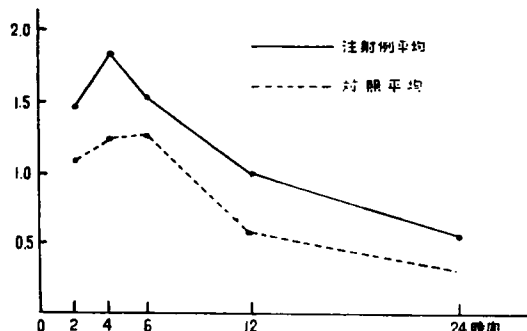
第17図 溶連菌4回注射後家兎骨髓偽好酸球墨粒貪喰能 (平均貪喰度)



第18表 溶連菌4回注射後家兎骨髓偽好酸球中性紅平均染色度

家兎	時間	2	4	6	12	24
第1家兎	家兎	1.44	1.85	1.36	12.6	0.68
	対 照	1.05	1.28	1.23	0.67	0.41
第2家兎	家兎	1.48	1.53	1.26	0.50	0.21
	対 照	1.12	1.26	1.30	0.53	0.27
第3家兎	家兎	1.47	2.15	1.97	1.23	0.74
	対 照	1.03	1.15	1.26	0.52	0.23
注射例平均		1.46	1.84	1.53	1.00	0.54
対照例平均		1.07	1.23	1.26	0.57	0.30

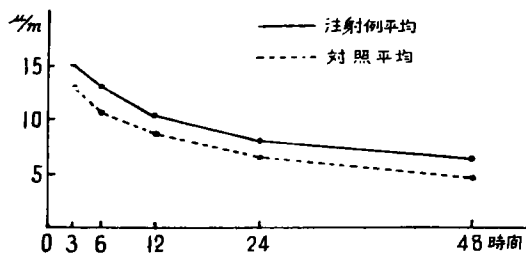
第18図 溶連菌4回注射後家兎骨髓偽好酸球中性紅平均染色度



第19表 黄葡萄菌4回注射後家兎骨髓偽好酸球游走速度 (単位 μ/m)

家兎	時間	3	6	12	24	48
第1家兎	注射例	13.65	13.19	9.32	7.15	6.46
	対照	12.51	10.21	8.64	6.83	5.31
第2家兎	注射例	16.60	13.77	10.92	8.23	6.36
	対照	13.91	11.10	9.88	6.14	4.02
第3家兎	注射例	15.38	13.02	10.84	8.24	6.88
	対照	13.00	11.21	8.39	6.63	5.24
注射例平均		15.21	13.33	10.33	7.87	6.57
対照平均		13.14	10.84	8.97	6.53	4.86

第19図 黄葡萄菌4回注射後家兎骨髓偽好酸球游走速度



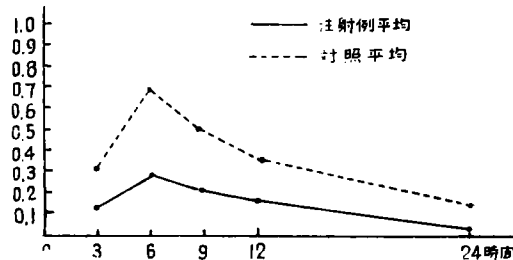
ii) 墨粒貪喰能: 第23表, 第23図に示す様に, 3例共対照に比較して低下を示し, 培養6時間値では平均貪喰度の平均は対照の約1/1.8に低下した。

iii) 中性紅生体染色: 第24表, 第24図に示す様に, 3例共対照に比較して早期より高度の染色傾向を示した。

第20表 黄葡萄菌4回注射後家兎骨髓偽好酸球墨粒貪喰能

家兎	時間	3	6	9	12	24
第1家兎	注射例	12	19	12	11	2
	平均貪喰度	0.19	0.36	0.17	0.15	0.02
対照	注射例	20	47	41	28	14
	平均貪喰度	0.25	0.73	0.58	0.41	0.15
第2家兎	注射例	10	20	17	14	3
	平均貪喰度	0.13	0.31	0.25	0.18	0.03
対照	注射例	27	47	39	28	12
	平均貪喰度	0.34	0.78	0.62	0.41	0.12
第3家兎	注射例	10	21	18	14	4
	平均貪喰度	0.12	0.26	0.22	0.17	0.05
対照	注射例	23	50	43	37	19
	平均貪喰度	0.31	0.82	0.69	0.58	0.23
(注射例平均)		11	20	16	13	3
平均貪喰度		0.15	0.31	0.21	0.17	0.03
(対照平均)		23	48	41	31	15
平均貪喰度		0.30	0.78	0.63	0.47	0.17

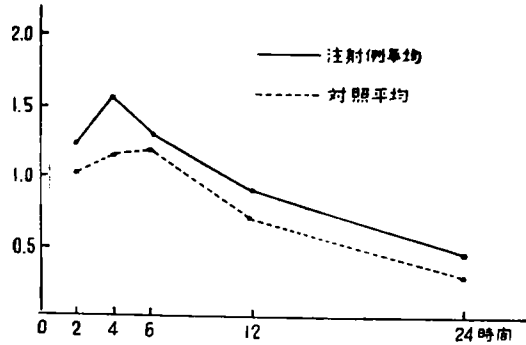
第20図 黄葡萄菌4回注射後家兎骨髓偽好酸球墨粒貪喰能 (平均貪喰度)



第21表 黄葡萄菌4回注射後家兎骨髓偽好酸球中性紅平均染色度

家兎	時間	2	4	6	12	24
第1家兎	注射例	1.28	1.65	1.23	0.76	0.28
	対照	0.98	1.12	1.16	0.75	0.33
第2家兎	注射例	1.20	1.58	1.46	1.08	0.54
	対照	1.07	1.18	1.22	0.83	0.32
第3家兎	注射例	1.24	1.45	1.36	0.87	0.51
	対照	1.08	1.16	1.19	0.54	0.27
注射例平均		1.24	1.56	1.35	0.90	0.44
対照平均		1.04	1.15	1.19	0.71	0.31

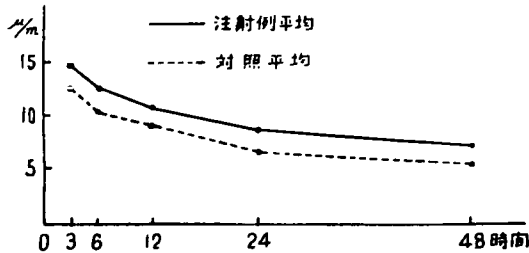
第21图 黄葡萄菌4回注射後家兔骨髓偽好酸球中性紅平均染色度



第22表 白葡萄菌4回注射後家兔骨髓偽好酸球游走速度 (单位 μ/m)

对照	時間	3	6	12	24	48
第1家兔	家兔	13.84	12.35	11.05	9.78	7.35
	对照	12.36	10.78	8.59	7.36	6.14
第2家兔	家兔	15.47	13.00	11.31	8.53	7.42
	对照	13.62	11.28	10.09	6.83	5.78
第3家兔	家兔	14.93	12.27	10.14	7.38	6.45
	对照	12.57	9.85	9.10	6.27	4.83
注射例平均		14.75	12.54	10.83	8.56	7.07
对照平均		12.85	10.29	9.26	6.82	5.58

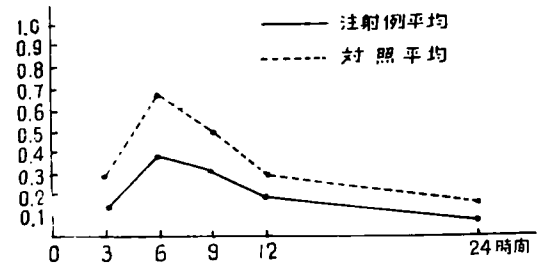
第22图 白葡萄菌4回注射後家兔骨髓偽好酸球游走速度



第23表 白葡萄菌4回注射後家兔骨髓偽好酸球墨粒貪喰能

家兔	時間	3	6	9	12	24
第1家兔	貪喰率	11	27	22	15	6
	平均貪喰度	0.13	0.41	0.32	0.20	0.08
对照	貪喰率	18	42	34	21	12
	平均貪喰度	0.21	0.65	0.53	0.32	0.14
第2家兔	貪喰率	12	24	17	12	9
	平均貪喰度	0.16	0.32	0.27	0.17	0.14
对照	貪喰率	27	41	25	17	15
	平均貪喰度	0.35	0.64	0.37	0.25	0.18
第3家兔	貪喰率	10	26	23	13	4
	平均貪喰度	0.12	0.41	0.35	0.21	0.04
对照	貪喰率	21	43	34	21	14
	平均貪喰度	0.27	0.73	0.54	0.30	0.15
(注射例平均)	貪喰率	11	26	21	13	6
	平均貪喰度	0.14	0.38	0.31	0.19	0.09
(对照平均)	貪喰率	22	42	31	30	14
	平均貪喰度	0.27	0.67	0.48	0.29	0.16

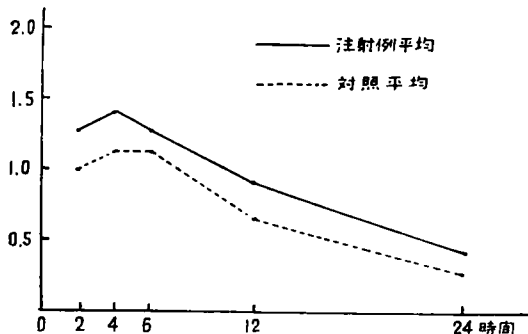
第23图 白葡萄菌4回注射後家兔骨髓偽好酸球墨粒貪喰能 (平均貪喰度)



第24表 白葡萄菌4回注射後家兔骨髓偽好酸球中性紅平均染色度

家兔	時間	2	4	6	12	24
第1家兔	家兔	1.20	1.36	1.12	0.84	0.35
	对照	1.02	1.18	1.03	0.64	0.26
第2家兔	家兔	1.21	1.32	1.26	0.85	0.43
	对照	0.98	1.09	1.16	0.54	0.27
第3家兔	家兔	1.38	1.52	1.43	1.02	0.55
	对照	1.02	1.13	1.19	0.77	0.31
注射例平均		1.26	1.40	1.27	0.90	0.44
对照平均		1.01	1.13	1.13	0.65	0.28

第24図 白葡萄菌4回注射後家兎骨髓
偽好酸球中性紅平均染色度



第4章 総括及び考按

緒言でも述べた様に、古くから細菌感染の際の白血球機能の変化に関する研究は、臨床的及び実験的に多数の学者により行はれているが、之等は大部分末梢白血球に関しての研究である。以下、私が各種化膿性球菌による実験的感染家兎の骨髓内偽好酸球に関して検索して得た成績を、従来の諸家の成績と比較しつつ検討を加えてみたい。

先ず遊走速度に関しては、Philipsborn⁵⁶⁾ が1928年患者末梢白血球の遊走速度を最初に記載してその低下を述べ、急性の軽症感染症では疾病の軽快と共に遊走も正常に復するが、重症では臨床的治癒後も尙低下の回復が完全でない旨を述べている。本邦では杉山教授門下の山下⁸⁰⁾ が1932年葡萄状球菌、連鎖状球菌、大腸菌等を各種の方法で家兎に1回注入して、その後の身体及び血液変化を検すると共に、感染症に関しては本邦で最初に末梢白血球の遊走速度並びに墨粒貪喰能を検討して、遊走速度の減少を述べており、且つこの低下は細菌の種類によつての大差を認めず、身体的徴候が回復すると再び旧に復すると述べている。爾來、大川⁵³⁾ は腸チフス患者、大原⁵²⁾ は結核菌静注家兎、板倉²⁶⁾ は葡萄状球菌ワクチン及び大腸菌ワクチン静注家兎に関して末梢白血球の遊走機能を観察して、いずれもその低下を述べている。一方骨髓内白血球の遊走機能の測定に関する文献は甚だ乏しい。井上²⁴⁾ が諸疾患患者の骨髓に就き検して、一般に軽症例では正常値に近く重症例では著明に低下したと述べ、又家兎にチフスワクチンを静脈注射した後、骨髓偽好酸球を検して遊走の低下を認めたと述べている程度である。しかるに私が各種の化膿性球菌感染家兎の骨髓偽好酸球に関して得た成績では、全例を通じて遊走速度は軽度の亢進を示しており、この点従来の諸家の末梢白血

球に於ける成績と多少異なる所見が得られた。今この点につき若干考察を加える事とする。先ず研究方法に就き吟味するならば、従来本邦諸家の遊走観察方法は超生体染色によるもので細胞は真の正常状態にあるとは考えられず、この点、分裂、成熟、遊出が盛んに行はれる骨髓に於ける細胞の生態を捉えるには、私が使用した様な組織培養によるのが最も有利であり、且つ正確を期せる所以であると考えられるが、感染を中心としてのかかる試みは未だ行われていない。次に、白血球の遊走機能亢進という事実は各種の化学物質を生体内に注入する際に起る事が牧野⁸⁵⁾ 以来よく知られており、前記井上²⁴⁾ も之を家兎骨髓細胞に就き認めたと云つている。特に教室巨理⁷⁶⁾ は被覆培養法を用いて、骨髓機能が亢進した場合に遊走速度も亢進する事を認め、又教室沼本⁴⁸⁾ は同じく被覆培養法を用いて急性瀉血家兎の骨髓を検して、組織増生が増加し始めると共に遊走速度も亢進を来した事を報告している。私の実験に於ても既に前編に詳述した様に、被覆培養での組織増生は全例を通じて増加しているのであつて、この点巨理⁷⁶⁾、沼本⁴⁸⁾ の成績に全く一致する。更に又骨髓内白血球と末梢血のそれとでは、その新旧、血中有害物質にさらされる度合等々大いに異なる点もあり得るので、骨髓に於て常に末梢に於けると同一の変化を認めようとするのは早計に過ぎると云えよう。かくして、この骨髓内偽好酸球の遊走速度亢進は、骨髓内に於ける白血球系の組織増生が活発化した事に基因した現象と思考されるのであり、骨髓内白血球の遊走機能の変化を以て直ちに疾患の軽重を云々する事は危険である事を示すものと云える。尙、更に考察を進めるならば、かかる白血球系の増生の活発化に際する遊出機能の問題がある。血球遊出機能に関しては特に骨髓血管構造と結びつけて、教室平木²¹⁾ 大藤⁴⁹⁾ 等の詳細な研究が有り、静脈竇の意義が強調されると共にここからの滯溜血球の急激な放出が明らかにされたのであるが、私はこの遊走能亢進が白血球が骨髓実質中より静脈竇内へ進入する迄の過程に対し合目的な意義があり得る事を述べておく。

次に墨粒貪喰能に関しては、Philipsborn⁵⁵⁾ が1924年各種疾患患者の末梢白血球に関して種々検考を加えて或種疾患には低下、別の疾患には亢進を認めている。本邦では前述の山下⁸⁰⁾ を始め、水木⁴⁰⁾ が葡萄状球菌死菌静注家兎に就き、山内⁷⁰⁾ は葡萄状球菌静注家兎、田上⁶⁷⁾ は葡萄状球菌、溶連菌其の他3種の細菌静注家兎、大原⁵²⁾ は結核菌静注家兎、板倉²⁶⁾ は葡萄状球菌ワクチン及び大腸菌ワクチン静注家兎、大賀

51) は諸種疾患患者につき、各々末梢白血球を検して貪喰能の低下を認めている。骨髓に関する検索は之に比して甚だ乏しく Galinowski¹²⁾ は感染症患者に付き重症なる程貪喰能の低下強く、経過が快方に向う程貪喰が増す事を認め、又、糸井²⁶⁾ が各種感染症患者骨髓に付き検して全く同様の事を述べている程度に過ぎない。従つて、多数の動物実験により組織培養を通じて骨髓偽好酸球貪喰機能を検査した文献は未だ見られない所である。私の貪喰試験の成績では、何れの細菌でも墨粒貪喰能の低下を認めて菌種による大差は認められず、只、緑連菌死菌では障碍が軽度であつた。又、全身徴候並びに貪血の進行、軽快等に関連性を持ちつつ変動した点等、全て先人の成績によく一致した。

次に生体染色性に関しては、之を細胞機能と結び附けての研究は甚だ乏しい。教室田村⁶⁹⁾ は骨髓培養による生体染色の研究に於て、病的細胞は塩基性色素により速かに高度に染色され、且早期に褪色する事を初めて述べたが、感染症に於ける私の研究では早期褪色は認めなかつたが矢張り全経過に早期濃染が明らかに認められて、新生されつつある偽好酸球に機能異常が存在する事が明白であつた。菌種により多少程度の差異はあつたがいずれも同じ傾向があり、死菌注射では変化は著しく軽度であつた。且つ墨粒貪喰の場合と同様に、疾病経過と強い関連性を持ちつつ変動した。

以上三方面より分析観察した骨髓内偽好酸球機能に関して、その相互関係等を少しく考察してみたい。遊走速度は亢進し、他の二機能は低下しているという事実は一見奇異に見えるが、この間には興味ある2、3の問題があるのであつて、先ず之等の機能間の相関関係の有無に関する文献を見ると、横山等⁸¹⁾ は健康人及び各種疾患患者の末梢白血球に関して遊走速度と墨粒貪喰能の関係を詳細に調べて全く別の機能であると断じており、松岡⁸⁰⁾ は寄生虫疾患に関して全く同様の事実を認めている。更に近年細胞内微細構造の電子顕微鏡的検索が進むにつれて、之が細胞機能の解明にも利用されるに至り、内野⁷¹⁾ は異物粒子が細胞膜に附着した後、endoplasmic reticulumの細胞膜開口部を介して細胞内に摂取されてそのendoplasmic reticulumの細管内を運搬されるのを観察している。食作用の本態がこの様な事実にあるとすれば、一方細胞運動に関してはその中心は中心小体(centriole)にありとされ、原形質の「ゾル」、「ゲル」転換が重視されている事と比較すればこの両機能間には直接の関係は無いであろう事が推察される。中性紅染色性に関し

ては、田中⁷⁰⁾ が電子顕微鏡的検索の結果、中性紅細胞がendoplasmic reticulumに起源を持つ所見は見出し得ず、既存の細胞小器管に関係無く細胞質中より分離限局化への過程を経て形成されると述べている。この説が正当なものであるならば、中性紅染色性と墨粒貪喰能とも又関係の無い機転と云い得るが、私の実験成績ではこの二者は相関関係を持ちつつ変動し、両機能の変化は細胞膜の変化に関係が深いであろうという点で共通の変化の基礎を持ちうるのではないかと想像された。次に、私は白血球の細菌に対する貪喰能は検しなかつたのであるが、この点に関しては前述の水木⁴⁰⁾、田上⁶⁷⁾ が墨粒貪喰と同時に感染菌及び異種の菌に対する貪喰能をも併せ検して、墨粒貪喰能は全経過に亘り正常値以下であるが、感染菌に対する貪喰は菌注入後数日は低下しても、その後著明に亢進して来る事を見出し、異種の菌に対する貪喰はこの中間の経過を取ると述べている。然りとするならば、墨粒に対してこそ低下していても、合目的性の面からは、貪喰能は亢進すると云える事となり興味が深い。この様な骨髓白血球機能の解離現象は、教室沼本⁴⁸⁾ が急性瀉血家兎の骨髓組織培養に於て、遊走速度の非常な亢進があるにも拘らず、貪喰能、生体染色性の面では機能低下が認められたと述べた所と全く軌を一にする所見である。

この様な細胞機能の変化は、感染菌の種類による特異差を有しない事からも想像される様に、複雑な生体反応の骨髓に於ける一つの現はれとも云うべく、骨髓に於ける白血球産生機転の亢進の結果、機能的に尙ほ未熟な部面を持つ濫造細胞の出現する事がかかる機能の解離を招いたのであつて、この様な現象は、天野教授¹⁾ が炎症に際しての諸変化の生物現象としての合法則性を強調している所にも反する事のない事実と云い得よう。

第5章 結 論

私は上述の実験成績を総括考按して次の結論を得た。

1) 家兎に緑連菌(0.5mg/kg)の連日静脈注射を行つて1, 4, 7, 14回後と経時的に骨髓偽好酸球機能を観察すると、遊走速度では全経過を通じ軽度の亢進が認められた。一方墨粒貪喰能は4, 7回注射後に最も強く低下して14回後では回復傾向を示し、中性紅生体染色でも早期高度染色即ち機能低下を認め、その推移は貪喰能の変化と併行した。即ち墨粒貪喰及び生体染色の面での機能低下は身体徴候、貪血等が悪化する一方骨髓内での白血球増生が活発化している時期に一致している。

2) 緑連菌死菌(0.5mg/kg)の4回注射では生菌4回に比べて之等変化が軽いが、溶連菌(0.5mg/kg)、黄葡萄菌(0.5mg/kg)及び白葡萄菌(1.0mg/kg)各々4回注射では緑連菌生菌4回の場合と同様の機能の変化を認めて、菌種による大差は認められない。

かかる機能上での解離は、新生白血球が機能的に未熟な部面をもつ濫造細胞である為と考えられる。

擱筆に当り、終始御懇篤な御指導と御校閲を賜った恩師平木教授に、又細菌学方面に於て終始適切な御助言と御援助を賜った細菌学教室の村上教授並びに荒木女史に深甚の謝意を表す。

(本論文の要旨は昭和33年度第20回日本血液学会総会に於て発表した。)

(文献後掲)

Studies on the Influences of the Bacterial Infection upon the Hematopoietic Mechanism in Bone Marrow chiefly by means of Bone-Marrow Tissue Culture

Part 2. Changes in the Functions of Pseudo-eosinophils of the Bone Marrow of the Rabbits infected with various Pyogenic Bacteria

By

Takakazu Naito

Department of Internal Medicine Okayama University Medical School

(Director : Prof. Kiyoshi Hiraki)

In the present experiment the author pursued changes occurring in the functions of pseudo-eosinophils of the bone marrow of the rabbits infected with various pyogenic bacteria and obtained the following results :

1. In the periodical observations on the functions of pseudo-eosinophils of the bone marrow after intravenous injection of *Streptococcus viridans* (0.5 mg/kg) for consecutive days of one, four, seven, and fourteen respectively, the wandering velocity is slightly increased in the entire course. On the other hand, the carbon particle phagocytotic ability falls to the lowest level after the fourth and seventh injections and it tends to recover after the fourteenth injection; and in the neutral-red vital staining pseudo-eosinophils stain quickly and deeply, proving likewise the fall in function and the change takes place in parallel with the change of phagocytotic ability, and this fall in the functions from the standpoints of carbon-particle phagocytosis and vital staining occurs when the systemic conditions and anemia in the test animals are aggravating and it also coincides with the stage where the production of leucocytes in the bone marrow is vigorously carried out.

2. When the results of four consecutive daily injections of the heat-killed *Streptococcus viridans* (0.5mg/kg) are compared with those of four similar injections of living bacteria, these changes as mentioned above are slight. Four consecutive injections of *Streptococcus haemolyticus* (0.5mg/kg), *Staphylococcus aureus* (0.5mg/kg), or *Staphylococcus albus* (1.0 mg/kg) give the similar findings as in the case of four consecutive injections of living *Streptococcus viridans*; and there are no marked differences by strains of bacteria.

From these it may be inferred that the dissociation in the functions of leucocytes is due to the overproduction of leucocytes, because the cells are being rapidly multiplied but immature from functional point of view.
