

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 1 編

腸チフス, パラチフス A, B 並びに大腸菌毒素の家兎及び人骨髓 培養 (被覆培養, 液体培養) に及ぼす影響について

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	4. 大腸菌毒素添加の場合
第 2 章 実験材料並びに実験方法	B 健康人骨髓培養に及ぼす影響
第 1 節 実験材料	1. 腸チフス菌毒素添加の場合
1) 実験動物	2. 大腸菌毒素添加の場合
2) 細菌毒素	第 2 節 細菌毒素の液体培養に及ぼす影響に ついて
第 2 節 実験方法	1. 腸チフス菌毒素添加の場合
第 3 節 観察方法	2. パラチフス A 菌毒素添加の場合
第 3 章 実験成績	3. パラチフス B 菌毒素添加の場合
第 1 節 細菌毒素の被覆培養に及ぼす影響に ついて	4. 大腸菌毒素添加の場合
A 家兎大腿骨々髓培養に及ぼす影響	第 3 節 腸チフス患者血清の家兎大腿骨々髓 培養に及ぼす影響について
1. 腸チフス菌毒素添加の場合	第 4 章 総括並びに考按
2. パラチフス A 菌毒素添加の場合	第 5 章 結 論
3. パラチフス B 菌毒素添加の場合	

第 1 章 緒 言

腸チフス症に於ける特異な白血球減少像は古く A. Halla⁷⁶⁾ (1883) により初めて記載され, その後 Türk¹⁰¹⁾, Limbeck⁸⁴⁾, Pick⁹¹⁾ etc の追認があり, 更に Naegeli⁸⁷⁾ の詳細なる研究により等しく学会の承認するところとなり, その診断的価値は高く評価されて来たが, その本態に関しては色々異論のあるところである。

扱て本症の白血球減少の本態について, Naegeli⁸⁷⁾ は Knochenmarkshemmung によると結論し, その後 Barta⁶⁰⁾ Frank⁶⁶⁾, Meinertz⁸⁶⁾ 及び三島⁴⁷⁾ 等はこれに同調した。処が藤森⁴⁵⁾ は白血球成熟不全及び血球動員障害によるとのべ, Galinowski⁶⁹⁾ は

白血球の動員障害によるとのべ, 下山²⁶⁾ は骨髓内幼若白血球の分裂能の低下によるものであると結論している。又寒川²⁶⁾, 村上⁵¹⁾ 等は自律神経系との関係を指摘し, 最近では副腎-下垂体系の関係を説くものがあるが結論には至っていない。

以上諸家は本症の本態として色々の説を出し, 何れも腸チフス菌毒素の所産であることは認めて居るが, この毒素が骨髓に対して如何に影響するかについては研究されていない。そこで私は骨髓を体外に取り出して, 骨髓対毒素の直接の関係を追求して, 本症の血液所見の本態の一端を究明しようと思ひ, 教室考案の骨髓体外組織培養法を応用して, 骨髓に対する腸チフス菌毒素の影響を観察した。更に同属のパラチフス A, B 菌毒素及び大腸菌毒素を骨髓

に直接添加してその影響を観察して相互に比較検討した。以下本編に於ては被覆培養及び液体培養に於ける赤白血球増血に対して興味ある結果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

1) 細菌毒素： 実験に使用した菌株は当大学細菌学教室の保存株、即ち腸チフス菌は S₆₇、パラチフスA菌は P. A.、パラチフスB菌は P. B.、及び大腸菌は Coli Communis のS型株の分譲を受けたものである。これらの各菌株をマウスに数代通過させて毒性を高め、下表の力価になったものより細菌毒素を抽出した。

実験に供した菌株及び LD₅₀

	菌 株	LD ₅₀
腸チフス菌	S ₆₇	30 (mg/kg)
パラチフスA菌	P. A.	15 (")
パラチフスB菌	P. B.	30 (")
大腸菌	Coli Communis	3 (")

動物通過した各菌株をシャーレ30~40枚の普通寒天培地にまいて20時間培養し、その集落を掻き集めて生理的食塩水でよく洗菌し、次で金剛砂を適量混じて乳鉢に移し、冷凍室内で2時間半完全に菌体を磨砕し、次で生理的食塩水を加えて100 mg/ccの濃度になし、之を冷凍高速遠沈器で10000回30分遠沈し、その上清を低温殺菌す。之を該菌の菌体毒素の原液とし更に生理的食塩水を加えて10 mg/cc, 1 mg/cc, 0.1 mg/cc, 0.01 mg/ccの濃度にしたものを添加物として実験に供した。抽出した細菌毒素は冷蔵庫内に貯え可及的速かに実験に使用した。

2) 実験動物 家兎は体重1.5 kg 前後の健康雄性家兎を1週間以上一定飼料を与えて健康状態を維持せるものを用いた。人骨髓培養では健康人の胸骨穿刺を行つて得られた組織片を用いた。

第2節 実験方法

所要器具は教室大藤¹⁶⁾等が使用せるものを一式揃え、乾熱滅菌器内で120°Cで6時間滅菌したものを使用した。

家兎骨髓培養では凹窩載物硝子式を用いた。先ず被覆ガラス(22×27 mm)上にヘパリン加血漿をマントー注射器に吸引し、1/2針々先より1滴滴下して、硝子中央に直径1.5 cmになる様に拡げ、一定小組織片(1mm³程度のもの)をその中央にお

き、細菌毒素の各濃度のものを夫々血漿と同量を滴下し、対照には生理的食塩水を同量滴下し、次に鶏胎圧搾液を同量滴下する。次に凹窩載物硝子の凹窩の周囲にパラフィン、ワセリンの混合物で枠を作り、裏返して先の被覆硝子に密着させる。そのまま37.0°Cの孵卵器に入れ、一定時間(10~20分)経過し、血漿の凝固を見届けてから裏返して、周囲をパラフィンで封入し、再び孵卵器内に入れ時間毎に取り出して観察する。

人骨髓培養では海野氏打抜載物硝子式を用いた。先ず上記の方法により24×32 mmの被覆硝子に組織を植え、次に予め0.9 mmの厚みの打抜硝子の穴の片面に被覆硝子をパルサムではりつけて滅菌しておき、残りの片面の穴の周囲にパルサムを付け、之を先の被覆硝子の上に密着せしめる。次にゆつくりと全体を傾ければ、本載物硝子の厚さ即ち培養室の厚さが小さいのでメヂウムの片面が上面被覆ガラスに密着する。そのまま37°Cの孵卵器内に入れ、培地の凝固を待つて裏返して安置する。時間毎に取り出し圧搾液側の面から観察し、再び裏返して孵卵器内に入れる。

液体培養⁷⁾²³⁾では教室久米田・岩崎氏法に則り、先ず健康家兎の大腿骨、脛骨及び上腕骨を取り出し、之を消毒し骨を砕いて骨髓を取り出し、Gey氏第1液に投入してホモゲナイザーにかけ、低速で30秒乃至1分間に亘つてホモゲナイズして骨髓細胞の均等な浮遊液を作る。この骨髓細胞浮遊液をスピッツグラスにとつて、3000回転で約10分間遠心沈澱を行う。遠沈すると骨髓の脂肪分は表面に浮び上り、骨髓細胞が底に沈澱する。この上清と共に脂肪分をすて、再びGey氏第1液でよく洗滌して再度遠沈する。沈澱した骨髓細胞を葡萄糖を含まないタイロード氏液の中に入れて、均等に混和して骨髓浮遊液を作り、之をワールブルグ検圧計用の特殊のボトルに1.5 cc宛分注する。この上に細菌毒素の各濃度のものを0.5 cc宛、対照には生理的食塩水を0.5 cc分注して、このボトルをワールブルグ検圧計にかけて振盪培養を行う。

第3節 観察方法

1) 被覆培養では培養後3, 6, 12及び24時間目に観察した。家兎骨髓の培養では48時間まで観察した。

a) 増生面積の計測： 37°Cに温められた保温箱内に顕微鏡を入れ、対物鏡4倍、接眼鏡5倍を装備してアツペの描画器を用いて増生の状態を逐時的に描画し、その面積をプランメーターで計測した。

b) 細胞密度の測定: 接眼レンズ5倍, 対物レンズ100倍で増生帯の周辺部, 中間部, 中心部の3区劃に就いて夫々視野内の細胞数を計算し, 其の和を以て密度指数とした.

c) 増生係数の算定: 骨髓細胞増生機能の状態を可及的に真に近ずけるために, 津島⁴⁰⁾の方法によつて増生係数を規定して算定し, 相互の骨髓細胞増生機能を比較検討した.

$$\text{増生係数} = \frac{\int_0^t f(t) \cdot p(t) dt}{\int_0^t g(t) \cdot q(t) dt}$$

f(t): 実験組織片の比較成長価

g(t): 対照組織片の " "

p(t): 実験組織の密度指数

q(t): 対照組織の " "

2) 液体培養では前記教室久米田²³⁾・岩崎⁷⁾の方法に従い, 赤血球, Hb 量の測定を培養開始前及び開始後3時間毎に行つた.

a) 赤血球数の測定: 滅菌した赤血球計算用メランジュールに細胞浮遊液を吸い, ハイム氏液を混じてビュルケル氏計算盤で計算した.

b) Hb 量の測定: 1/15 モル第1磷酸カリ溶液を22cc と 1/15 モル第2磷酸ソーダ3cc を混和し, 之を4倍に稀釈したものを6cc に血液浮遊液20cmm を充分に混和溶血せしめた後, 不溶解部を遠沈除去し, 次で20%フェリシアンカリ溶液1滴を加え, 10分後に5%シアンカリ1滴, 更に2分後にアンモニア1滴を夫々加えて, 10分以内に分光光度計で測定した.

第3章 実験成績

第1節 細菌毒素の被覆培養に及ぼす影響について.

A) 家兎大腿骨髄培養に及ぼす影響

1) 腸チフス菌毒素添加の場合

先ず比較成長価を算出して比較するに, 表1, 図1, に示す如く10 mg/cc の高濃度では抑制が強く,

表1 腸チフス菌毒素添加, 比較成長価

No. 101

時間	3	6	12	24	48
対 照	7.0	17.5	38.5	73.0	111.8
10 mg/cc	2.8	5.1	9.6	19.6	31.2
1 "	6.6	13.0	25.9	46.6	70.7
0.1 "	9.7	22.1	41.4	70.0	90.3
0.01 "	8.0	19.7	39.6	67.1	100.7

No. 102

時間	3	6	12	24	48
対 照	9.5	21.9	40.5	68.0	103.0
10 mg/cc	6.0	10.0	18.1	31.3	
1 "	6.8	11.4	23.4	42.1	61.4
0.1 "	7.2	13.6	25.9	53.3	
0.01 "	10.9	23.9	40.9	67.5	93.4

No. 103

時間	3	6	12	24	48
対 照	7.1	12.7	27.1	49.0	71.9
10 mg/cc	3.1	5.3	8.6	17.6	
1 "	6.1	10.4	19.3	38.7	
0.1 "	6.1	11.3	24.0	45.3	50.1
0.01 "	6.0	13.3	33.6	57.6	

表2 腸チフス菌毒素添加, 成長係数平均

時間	3	6	12	24
10 mg/cc	0.5	0.4	0.3	0.4
1 "	0.8	0.7	0.6	0.7
0.1 "	1.0	0.9	0.9	0.9
0.01 "	1.0	1.1	1.1	1.0

表3 腸チフス菌毒素添加, 細胞密度指数

密度指数	d (24時間値)
対 照	32
10 mg/cc	29
1 "	33
0.1 "	34
0.01 "	29

成長係数は表2に示す如く24時間値で0.4となつた. 次に1 mg/cc では表1, 図1に示す如く比較成長価は中等度に低く, 成長係数は0.7 (24時間値) であつた. 爾余の濃度では対照と大差を見なかつた.

細胞密度指数は各濃度とも対照に比し有意の差はなかつた.

増生係数は白血球系の骨髓細胞増生機能の程度を総合出来るわけであるが表4, 図5に示す如く10 mg/cc では0.33, 1 mg/cc では0.68となり, 骨髓機能障害が極めて強いことを示している.

2) パラチフスA菌毒素添加の場合

比較成長価は表5, 図2に示す如く10 mg/cc の添加例では腸チフス菌毒素添加例と同じく対照に比

表4 腸チフス菌毒素添加, 増生係数

増生係数	S'/S
10 mg/cc	0.33
1 "	0.68
0.1 "	0.93
0.01 "	0.95

表5 パラチフスA菌毒素添加, 比較成長価
(家兎) No. 105

時間	3	6	12	24	48
対 照	8.1	17.6	29.4	41.5	50.2
10 mg/cc	6.7	13.0	16.4	20.1	35.4
1 "	7.4	14.1	20.1	30.0	54.0
0.1 "	10.4	18.0	25.6	38.0	
0.01 "	7.5	11.4	21.4	31.4	77.7

No. 106

時間	3	6	12	24	48
対 照	7.0	20.7	38.7	55.3	62.1
10 mg/cc	3.2	5.3	8.2	11.0	11.0
1 "	4.6	9.3	15.8	23.0	25.5
0.1 "	9.2	20.0	33.5	46.2	
0.01 "	7.0	20.7	36.5	46.9	

No. 107

時間	3	6	12	24	48
対 照	7.1	16.6	27.3	34.0	
10 mg/cc	4.6	7.9	12.3	15.6	19.7
1 "	8.0	14.9	21.1	24.7	28.4
0.1 "	6.2	14.7	25.5	34.8	34.8
0.01 "	6.2	15.5	24.0	32.0	

図1 腸チフス菌毒素添加, 比較成長価
(平均値)

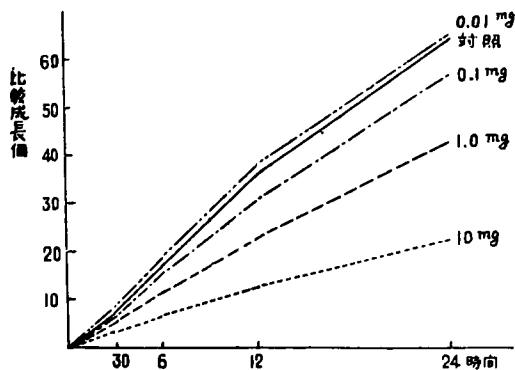


図2 パラチフスA菌毒素添加, 比較成長価

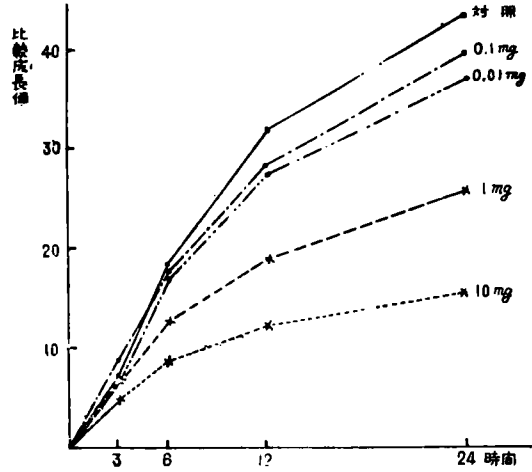


図3 パラチフスB菌毒素添加, 比較成長価

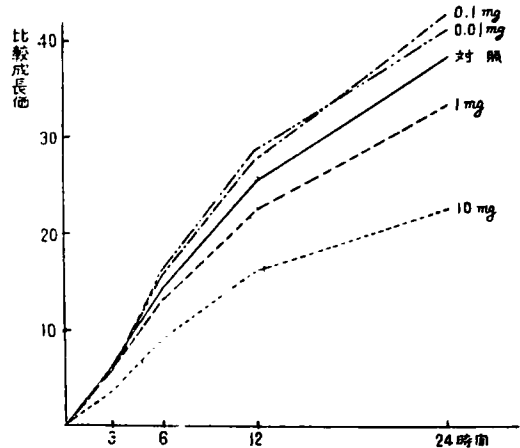


図4 大腸菌毒素添加, 比較成長価 (家兎)

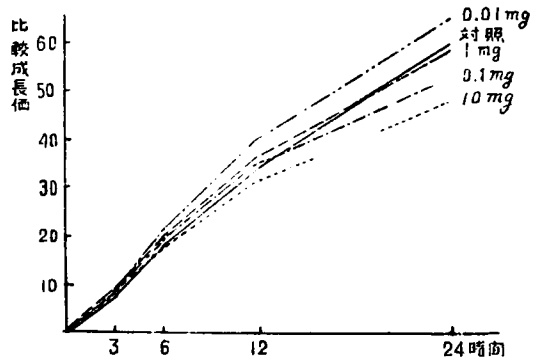
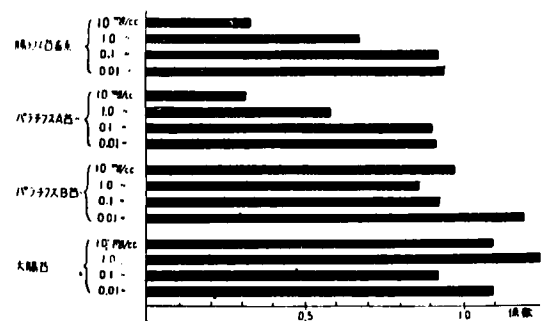


図5 腸チフス, パラチフスA, B並びに大腸菌毒素添加 (家兎骨髓) 増生係数



し骨髓増生は悪く、1 mg/cc では6時間目より抑制が見られた。0.1, 0.01 mg/cc では対照と有意の差がなかった。成長係数は表6に示す如く24時間で、

表6 パラチフスA菌毒素添加, 成長係数(平均)

時間	3	6	12	24
10 mg/cc	0.7	0.5	0.4	0.4
1 "	0.9	0.7	0.6	0.6
0.1 "	1.1	1.0	0.9	0.9
0.01 "	0.9	0.9	0.9	0.8

10 mg/cc : 0.4, 1 mg/cc : 0.6, 爾余の濃度では0.9, 0.8であつた。

細胞密度指数は表7に示す如く10 mg/cc では対

表7 パラチフスA菌毒素添加, 細胞密度指数

密度指数	d (24時間値)
対 照	27
10 mg/cc	22
1 "	26
0.1 "	27
0.01 "	29

照の27に対して22で低値であるが、他の濃度では対照と殆んど同じであつた。

増生係数は表8, 図5に示す如く腸チフス菌毒素

表8 パラチフスA菌毒素添加, 増生係数

増生係数	S'/S
10 mg/cc	0.32
1 "	0.59
0.1 "	0.91
0.01 "	0.92

の場合と全く同様の傾向を示し、10 mg/cc, 1 mg/cc では著明な骨髓機能障害を認めた。

3) パラチフスB菌毒素添加の場合

比較成長係は表9, 図3に示す如く10 mg/cc では中等度の増生の抑制が見られ、1 mg/cc では少々軽度の抑制が見られたが、爾余の濃度では寧ろ少々促進の傾向を認めたが有意の差はない。成長係数は表10に示す如く、10 mg/cc では0.6を示し、他の濃度では0.9~1.1の値を示した。

細胞密度指数は対照の35に対し10 mg/cc では39を示し、爾余の濃度では30~39の間にあつた。

増生係数は表12, 図5に示す如く10 mg/cc,

表9 パラチフスB菌毒素添加, 比較成長係(家兔) No. 108

時間	3	6	12	24	48
対 照	8.2	15.2	26.8	43.9	68.0
10 mg/cc	5.4	9.5	15.7	25.4	42.7
1 "	7.6	12.5	19.8	34.0	52.0
0.1 "	9.9	16.1	26.3	44.5	65.5
0.01 "	8.9	16.8	26.9	46.8	63.0

No. 109

時間	3	6	12	24	48
対 照	4.5	11.5	28.0	41.5	
10 mg/cc	1.9	4.0	9.8	17.1	29.2
1 "	3.8	8.8	17.3	28.1	42.3
0.1 "	3.5	13.4	30.0	49.6	
0.01 "	3.2	10.5	27.1	43.0	61.0

No. 110

時間	3	6	12	24	48
対 照	6.3	15.2	22.0	30.0	
10 mg/cc	4.5	13.1	23.1	25.5	
1 "	6.0	17.7	29.4	38.5	
0.1 "	5.6	16.6	27.3	35.0	
0.01 "	6.0	19.7	32.8	36.0	

表10 パラチフスB菌毒素添加, 成長係数平均

時間	3	6	12	24
10 mg/cc	0.6	0.6	0.6	0.6
1 "	0.9	1.0	0.9	0.9
0.1 "	1.0	1.1	1.1	1.1
0.01 "	1.0	1.1	1.1	1.1

表11 パラチフスB菌毒素添加, 細胞密度指数

密度指数	d (24時間値)
対 照	35
10 mg/cc	39
1 "	33
0.1 "	30
0.01 "	39

表12 パラチフスB菌毒素添加, 増生係数

増生係数	S'/S
10 mg/cc	0.75
1 "	0.86
0.1 "	0.93
0.01 "	1.23

1.0mg/cc, 0.1 mg/cc では 0.75 0.86, 0.93 の値を示し, 0.01 mg/cc では1.23となり, 高濃度では軽度の骨髄機能障害を認めたが, 腸チフス, パラチフスA菌毒素の場合程の障害は認めなかつた。

4) 大腸菌毒素添加の場合

比較成長価は表13, 図4に示す如く12時間目より

表13 大腸菌毒素添加, 比較成長価 (家兎)

No. 111

時間	3	6	12	24	48
対 照	9.5	24.2	52.7	74.0	85.8
10 mg/cc	10.8	25.6	46.8	72.5	
1 "	12.1	31.0	56.1	89.6	
0.1 "	8.8	24.3	47.1	64.4	77.3
0.01 "	10.3	32.0	61.3	96.3	117.9

No. 112

時間	3	6	12	24	48
対 照	6.0	14.0	22.0	50.6	75.5
10 mg/cc	7.4	14.8	21.4	34.0	63.4
1 "	8.2	15.0	23.0	44.5	84.4
0.1 "	7.5	15.6	23.0	43.2	83.0
0.01 "	7.1	15.0	23.1	46.5	73.0

No. 113

時間	3	6	12	24	48
対 照	8.0	16.5	38.1	55.6	83.4
10 mg/cc	6.2	14.8	27.6	40.3	59.2
1 "	7.9	16.2	30.3	44.1	65.7
0.1 "	10.4	19.4	35.3	51.4	63.3
0.01 "	7.8	16.8	35.5	54.4	82.1

表14 大腸菌毒素添加, 成長係数 (平均)

時間	3	6	12	24
10 mg/cc	1.1	1.0	0.9	0.8
1 "	1.2	1.1	1.1	1.0
0.1 "	1.1	1.1	1.0	0.9
0.01 "	1.1	1.2	1.2	1.1

差が出来始め, 24時間では 10 mg/cc, 0.1 mg/cc の場合は対照より少々軽度の増生の抑制を認めた。1 mg/cc では全く対照と同じで 0.01 mg/cc で少々増生の促進を認めたが有意の差はなかつた。従つてその成長係数は 10 mg/cc では0.8で, 他の濃度では0.9~1.1の間であつた。

表15 大腸菌毒素添加, 細胞密度指数

密度指数	d (24時間値)
対 照	37
10 mg/cc	46
1 "	41
0.1 "	35
0.01 "	36

細胞密度指数は表15に示す如く, 10 mg/cc, 1 mg/cc で46, 41 (対照: 37) であつた。

増生係数は表16, 図5に示す如く全濃度に於て

表16 大腸菌毒素添加, 増生係数

増生係数	S'/S
10 mg/cc	1.10
1 "	1.25
0.1 "	0.92
0.01 "	1.10

0.92~1.25の間にあり, 骨髄機能は少々促進の傾向が見られた。

B) 健康人骨髄培養に及ぼす影響

1) 腸チフス菌毒素添加の場合

比較成長価は表17, 図6に示す如く, 10 mg/cc, 1 mg/cc では中等度の増生の抑制が見られた。0.1 mg/cc では対照より少々低下し, 0.01 mg/cc では対照と同じであつた。成長係数は 10 mg/cc,

表17 腸チフス菌毒素添加, 比較成長価 (人間)

No. 201

時間	3	6	12	24
対 照	17.0	31.2	45.0	50.1
10 mg/cc	18.0	18.3	21.0	25.6
1 "	8.8	15.0	24.5	30.4
0.1 "	11.0	20.5	36.5	36.8
0.01 "	11.6	28.4	35.4	42.6

No. 202

時間	3	6	12	24
対 照	8.2	14.5	20.6	27.0
10 mg/cc	7.0	9.1	12.7	16.5
1 "	7.8	9.9	14.8	17.3
0.1 "	11.2	16.5	21.5	23.5
0.01 "	10.5	16.5	24.3	34.0

表18 腸チフス菌毒素添加, 成長係数 (平均) (人間)

時間	3	6	12	24
10 mg/cc	1.0	0.6	0.5	0.5
1 "	0.7	0.5	0.6	0.6
0.1 "	0.9	0.8	0.9	0.8
0.01 "	0.9	1.0	0.9	1.0

図6 腸チフス菌毒素添加, 比較成長価 (平均)

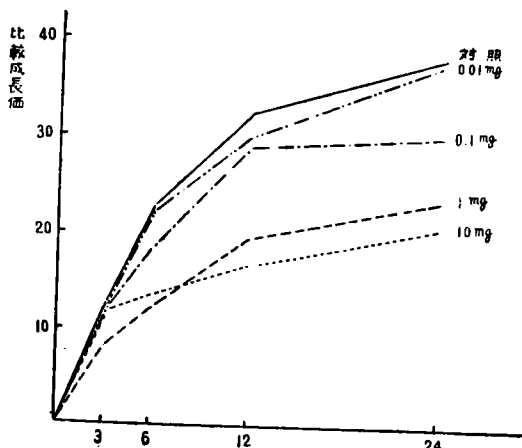


図7 大腸菌毒素添加, 比較成長価 (人間)

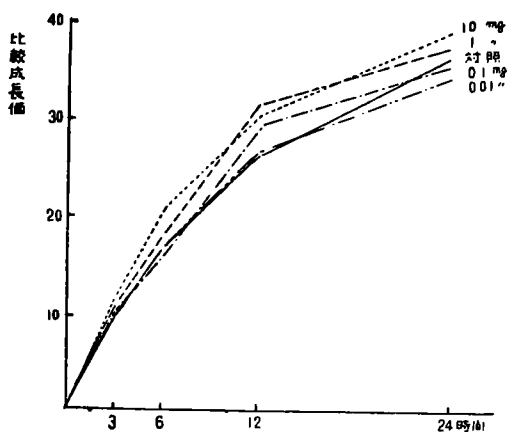
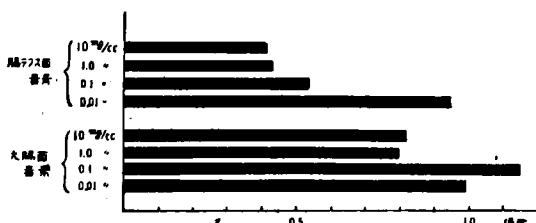


図8 腸チフス, 大腸菌毒素添加 (人骨髓) 増生係数



1 mg/cc では0.5, 0.6 (24時間値) で対照の50%であった。以下の濃度では対照と大差はなかつた。

細胞密度指数は表19に示す如く10 mg/cc, 1 mg/cc, 0.1 mg/cc では対照より少々低値を示した。

増生係数は表20, 図8に示す如く家兎骨髓と同じ

表19 腸チフス菌毒素添加, 細胞密度指数 (人間)

密度指数	d (24時間値)
対 照	84
10 mg/cc	60
1 "	60
0.1 "	53
0.01 "	89

表20 腸チフス菌毒素添加, 増生係数 (人間)

増生係数	S'/S
10 mg/cc	0.41
1 "	0.43
0.1 "	0.54
0.01 "	0.95

く10 mg/cc, 1 mg/cc, 0.1 mg/cc では非常に低値を示し, 強い骨髓機能障害を認めた。

2) 大腸菌毒素添加の場合

比較成長価は表21, 図7に示す如く, 10 mg/cc, 1 mg/cc では対照より促進の傾向を認めたが大差がない点は腸チフス菌毒素の場合と大いに異なる。

成長係数は10 mg/cc, 1 mg/cc で1.1, 1.0 (24時間値) で大差はなかつた。

細胞密度指数は10 mg/cc, 1 mg/cc で夫々39 (対

表21 大腸菌毒素添加, 比較成長価 (人間)

No. 203

時間	3	6	12	24
対 照	5.0	10.7	20.4	20.2
10 mg/cc	3.8	8.5	13.8	19.8
1 "	4.4	8.4	15.0	21.8
0.1 "	7.1	13.0	26.9	27.0
0.01 "	5.4	9.7	19.6	23.5

No. 204

時間	3	6	12	24
対 照	13.8	23.4	32.8	53.3
10 mg/cc	19.0	33.6	47.1	59.0
1 "	17.0	28.3	48.3	54.0
0.1 "	12.3	20.7	32.3	44.0
0.01 "	14.5	24.5	35.0	45.5

照：54) で低値を示していた。

増生係数は表24, 図8に示す如く, 10 mg/cc, 1 mg/cc では0.82, 0.80, と少々軽度の骨髓機能障害が見られた。

表22 大腸菌毒素添加, 成長係数, 平均, (人間)

時間	時間			
	3	6	12	24
10 mg/cc	1.2	1.2	1.1	1.1
1 "	1.1	1.1	1.2	1.0
0.1 "	1.0	1.0	1.1	1.0
0.01 "	1.1	1.0	1.0	0.9

表23 大腸菌毒素添加, 細胞密度指数 (人間)

密度指数	d (24時間値)
対 照	54
10 mg/cc	39
1 "	39
0.1 "	60
0.01 "	54

表24 大腸菌毒素添加, 増生係数 (人間)

増生係数	S'/S
10 mg/cc	0.82
1 "	0.80
0.1 "	1.15
0.01 "	0.99

第2節 細菌毒素の液体培養に及ぼす影響について。

1) 腸チフス菌毒素添加の場合

赤血球数の増加率は表25, 図9に示す如く何れの

図9 腸チフス菌毒素添加赤血球増加率

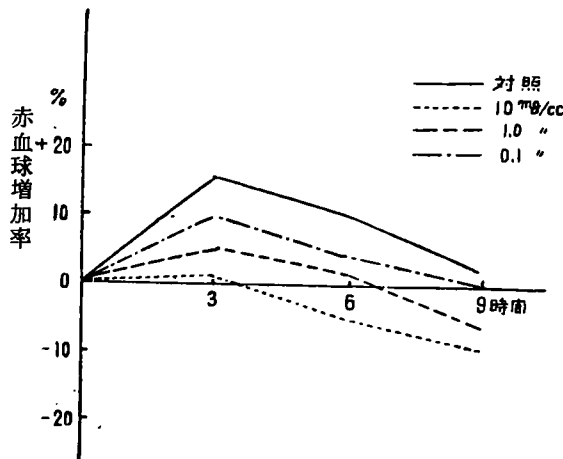


表25 腸チフス菌毒素添加, 液体培養

時間	動物番号	No. 301		No. 302		No. 303	
		赤血球数 × 10 ³	Hb量 mg/dl	赤血球数 × 10 ³	Hb量 mg/dl	赤血球数 × 10 ³	Hb量 mg/dl
0 3 6 9 st	対 照	200	740	180	865	225	990
		229	615	210	615	260	780
		220	615	200	615	245	740
		215	500	190	500	220	615
0 3 6 9	10 mg/	195	740	190	865	230	980
		169	500	180	500	215	740
		158	395	165	500	200	615
		150	395	150	395	210	500
0 3 6 9	1.0 mg/	185	865	185	865	225	980
		198	740	190	615	240	615
		200	740	194	500	208	615
		190	500	170	500	200	500
0 3 6 9	0.1 mg/	210	865	175	865	215	980
		235	615	198	615	230	865
		220	740	185	395	220	615
		210	500	169	395	218	500

濃度に於ても対照に比し劣る。そして高濃度になる程劣るようであるが大差はない。

色素量の増加状態も表25, 図10に示す如く何れも増加は認めず, 而も対照よりも少々減少して居た。全般的に腸チフス菌毒素は細胞増生に対して少々抑制的であつた。

2) パラチフスA菌毒素添加の場合

赤血球増加率は表26, 図11に示す如く何れの濃度に於ても対照よりも少々劣るが, 濃度による差異は著明でなかつた。

色素量の増減は表26, 図12に示す如く何れの濃

図10 腸チフス菌毒素添加 Hb 増加量

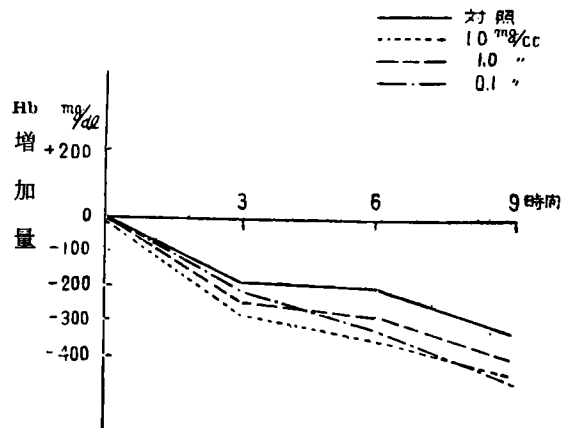
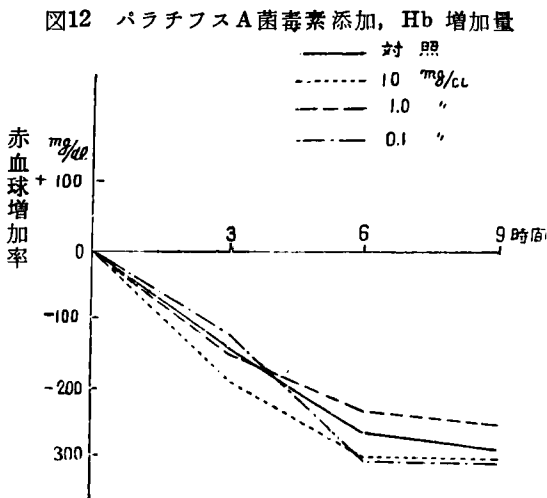
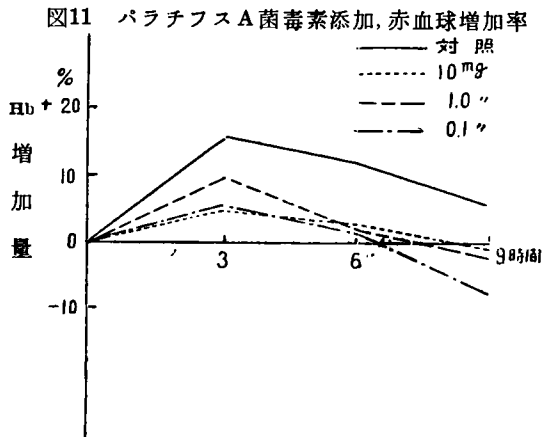


表26 パラチフス A 菌毒素添加, 液体培養

時間	動物番号 濃度	No. 304		No. 305		No. 306	
		赤血球数 ×10 ³	Hb量 mg/dl	赤血球数 ×10 ³	Hb量 mg/dl	赤血球数 ×10 ³	Hb量 mg/dl
0	対照	180	740	146	395	155	990
3		198	615	188	290	190	780
6		196	500	182	190	180	600
9		190	500	175	190	160	550
0	10 mg/cc	173	740	150	395	150	980
3		171	500	160	290	165	740
6		165	500	158	190	163	500
9		157	500	154	190	159	500
0	1.0 mg/cc	162	740	146	390	145	980
3		156	500	180	240	164	740
6		130	500	177	190	154	500
9		127	500	169	140	147	500
0	0.1 mg/cc	181	740	160	395	151	1100
3		187	615	161	395	170	865
6		175	615	155	190	169	500
9		170	615	128	190	153	500



度に於ても時間と共に減少して行つたが、何れも対照と有意の差を認めなかつた。

3) パラチフス B 菌毒素添加の場合

赤血球増加率は表27, 図13に示す如く、高濃度 10 mg/cc では対照と略々同じ成績を得、他の濃度では少々対照より低値を示したが、何れにせよ有意の差は認めなかつた。

血色素量の増減は表27, 図14に示す如く 6 時間より血色素の減少が少々著明になつて居る。

表27 パラチフス B 菌毒素添加, 液体培養

時間	動物番号 濃度	No. 307		No. 308		No. 309	
		赤血球数 ×10 ³	Hb量 mg/dl	赤血球数 ×10 ³	Hb量 mg/dl	赤血球数 ×10 ³	Hb量 mg/dl
0	対照	156	615	150	865	169	500
3		179	600	180	865	190	500
6		180	500	170	790	187	395
9		170	395	160	690	181	290
0	10 mg/cc	151	615	151	865	150	500
3		170	615	169	865	168	500
6		172	395	165	615	167	290
9		155	395	160	615	165	290
0	1.0 mg/cc	166	677	152	918	150	447
3		167	615	173	918	174	447
6		163	395	164	615	166	290
9		157	290	158	500	163	290
0	0.1 mg/cc	148	865	149	865	173	615
3		175	700	170	865	190	615
6		173	395	166	740	176	395
9		166	290	162	615	140	290

図13 パラチフス B 菌毒素添加, 赤血球増加率

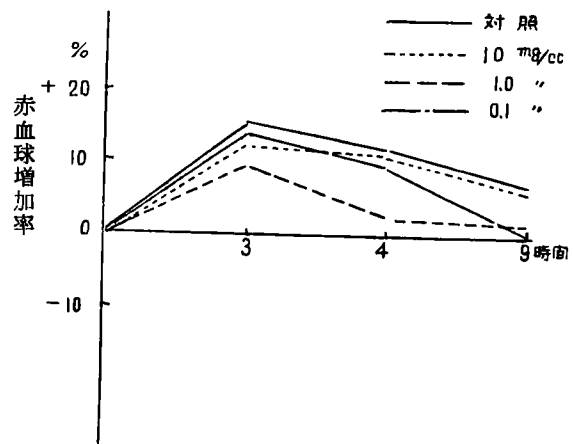


図14 パラチフスB菌毒素添加, Hb 増加量

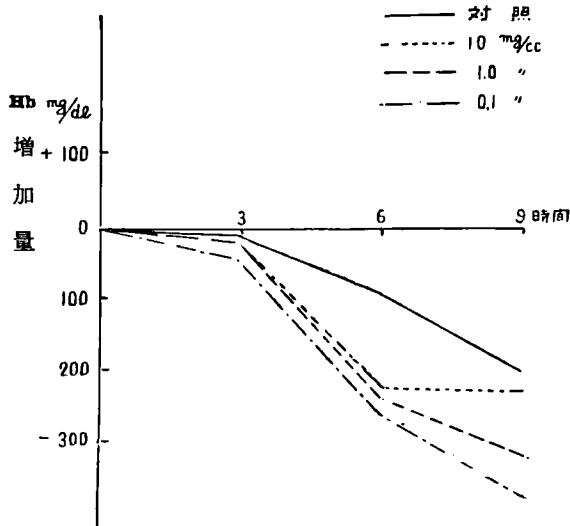
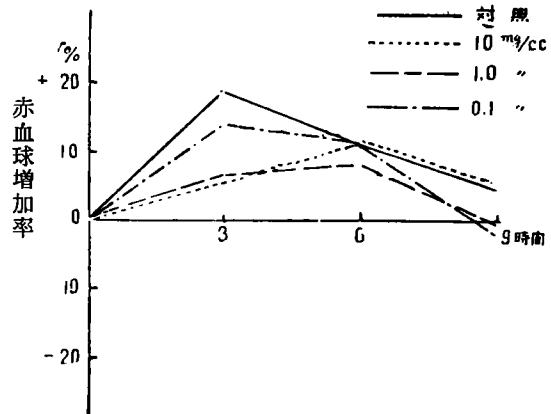


図15 大腸菌毒素添加, 赤血球増加率



4) 大腸菌毒素添加の場合

赤血球増加率は表28, 図15に示す如く高濃度(10 mg/cc)では6時間, 9時間で対照と略々同じ値を示したが, 3時間では対照に比し増加率は劣つて居た。爾余の濃度では対照より稍々劣るが, 大差は認められなかつた。

血色素量の増減は表28, 図16に示す如く対照に比し, より減少して居たが著明の差はないようである。

以上液体培養では前述の白血球系に対する影響に

図16 大腸菌毒素添加 Hb 増加量

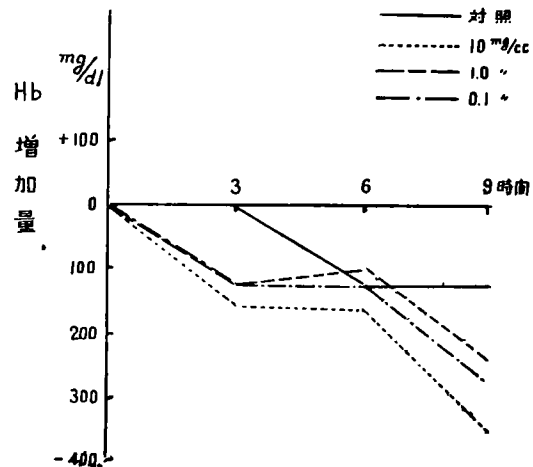


表28 大腸菌毒素添加, 液体培養

時 間	動物 番号 濃度	No. 310		No. 311		No. 312	
		赤血 球数 ×10 ³	Hb量 mg/dl	赤血 球数 ×10 ³	Hb量 mg/dl	赤血 球数 ×10 ³	Hb量 mg/dl
0	対 照	201	865	188	740	255	740
3		238	615	203	865	291	740
6		230	615	194	740	295	615
9		214	395	177	740	282	615
0	10 mg /cc	191	865	176	980	250	740
3		172	615	160	865	244	615
6		169	615	157	865	212	615
9		166	500	140	615	270	500
0	1.0 mg /cc	195	865	171	855	262	865
3		204	615	185	865	281	740
6		210	615	188	740	282	740
9		198	500	163	740	263	615
0	0.1 mg /cc	200	865	166	740	247	740
3		237	615	191	740	282	615
6		226	615	183	740	278	615
9		212	395	159	615	260	500

比し, 細胞増生に対する影響は抑制的ではあるが軽度であり, 又各菌種による, 又各濃度による影響差は著明ではなかつた。

第3節 腸チフス患者血清の家兎大腿骨々髄培養に及ぼす影響について。

幸いに腸チフス患者血清を入手することが出来たので家兎大腿骨々髄の被覆培養に本患者血清を添加して骨髓細胞増生に対する影響を観察した。

腸チフス患者は表29に示すように竹○, 赤○2人の患者で病日, 血液像, 臨床像の要点は表29に示す通りである。竹○は末梢血液像で4000という白血球減少を認め, 回復後は()内に示すように7500になっていた。又赤○では著明な白血球減少を認めなかつた。

患者竹○の血清添加の場合: 表30, 図17に示す如く比較成長価は対照に比し可成り組織増生の抑制を認めた。細胞密度指数(24時間値)は対照の36に対し34であつた。以上より本血清中には明らかに骨髓

表29 腸チフス患者臨床像

患者名	病日	血液像	臨床像
竹○ ♂ 26才	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: 腸チフス菌(+)
赤○ ♀ 5才	13日	血色素: 64% 赤血球数: 357×10 ⁴ 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(+)

() 内恢復後

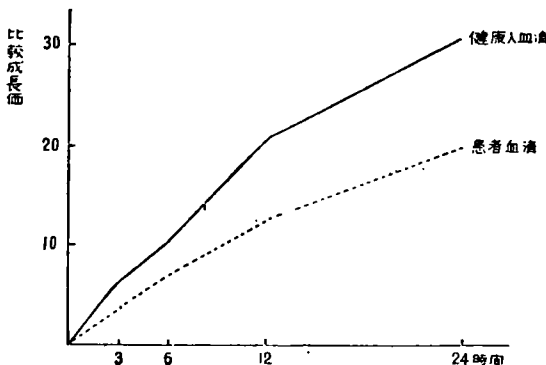
表30 腸チフス患者血清添加, 比較成長価

竹 ○, ♂, 26才

血清	時間	3	6	12	24
健康人血清		6.2	10.4	20.8	31.0(36)
患者血清		3.7	7.0	12.6	20.2(34)

() 細胞密度指数 (24時間値)

図17 腸チフス患者(竹○)血清添加, 比較成長価



細胞増生機能の障碍因子を認めた。

患者赤○の血清添加の場合: 表31, 図18に示す如く, 比較成長価は対照より少々低値を示して居るが有意の差は認めなかつた。細胞密度指数 (24時間

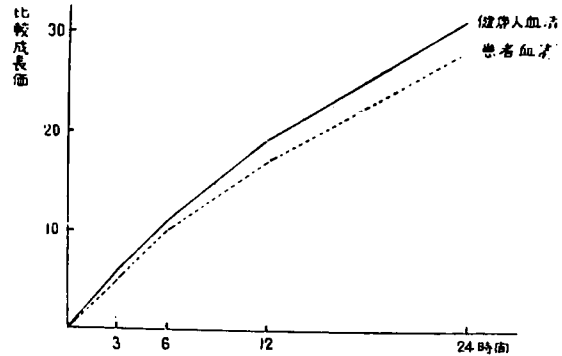
表31 腸チフス患者血清添, 比較成長価 (赤○)

赤 ○ ♀, 5才

血清	時間	3	6	12	24
健康人血清		6.0	11.0	19.0	31.0 (34)
患者血清		5.0	10.0	17.0	28.3 (34)

() 細胞密度指数 (24時間値)

図18 腸チフス患者(赤○)血清添加, 比較成長価



値)も両者同値であり, 骨髓細胞増生機能の障碍の程度は極めて軽度であつた。

第4章 総括並びに考按

腸チフス症の特異な白血球減少症の本態については, 嘗つて Naegeli⁸⁷⁾ が腸チフス菌毒素による Knochenmarkshemmung によると述べ世の注目を浴び, その後 Barta⁶⁰⁾, Meinertz⁸⁶⁾ 及び三島⁴⁷⁾ はこの Naegeli⁸⁷⁾ 説に同調した。次で Frank⁶⁶⁾ は腸チフス菌によつて脾並びに淋巴装置に新生された組織即ち typhöse Neubildung が骨髓に作用し, 骨髓の白血球成生を阻止するためだという新説を立てた。又藤森⁴⁵⁾ は白血球の動員障碍及び白血球の成熟不全によるものであるとのべ, Galinowski⁶⁹⁾ は白血球の動員障碍によるものであるとのべている。更に下山²⁰⁾ (1951) は骨髓内白血球の核分裂能が下降するためであるとのべている。

以上は大體骨髓内にその成因を求めているが, 横田⁶⁶⁾ は骨髓内には本質的なものは認められず, 腸チフス症の白血球減少症は末梢に於ける好中球の消耗の様相によるとのべている。又 Rohr⁹⁴⁾ は骨髓内白血球の再生と末梢の消耗の釣合の問題で腸チフスに於ては再生に比し消耗がより烈しいためであると述べている。

以上の如く色々の説が見受けられるが, その何れも今日尚未だに完全な定説としては認められていない。その理由としては先ず之等の研究はその方法に於て時代と共に変遷してきてはいるが, 更に新しい角度から新しい方法を以て観察する余地と必要があるからである。即ち Naegeli⁸⁷⁾ の観察は剖検によつて得た骨髓所見である。次で Arinkin の胸骨穿刺術発明以後は胸骨穿刺による骨髓所見の研究が行われて来たが, 何れもマイグムザ染色にたよつた研

究方法であつて、組織培養による生態観察によつた研究は Naegeli⁸⁷⁾ のみならず、他の総ての研究者の間に於ても全く見当らない。次には従来の研究は生体内で細菌毒素の働いた後の骨髓や血液を観察したもので、之では生体内の複雑な防禦機転がこの間に関与しているので、細菌毒素の造血器に対する直接の影響をうかがうことは不可能である。この点については造血器を体外に取り出して、他の器官との関係を断ちきつて、之に対する細菌毒素の影響をみる外はないが、従来かかる試みは全く行われていない。そこで私は骨髓を体外に取り出して、これに腸チフス菌毒素を直接添加して、骨髓対細菌毒素との関係を検討し、本症の血液所見の本態の一端を解明しようと試みた次第である。

先ず健康家兎骨髓被覆培養による成績を総括して見るに、腸チフス菌毒素の 10 mg/cc の濃度では、その増生係数は 0.33 で、骨髓細胞増生機能に対する障害作用が極めて強いことを示している。又この 0.01 mg/cc の濃度では増生係数は 0.95 である。之に反して大腸菌毒素では全濃度に於てその増生係数は 1.0 前後で、骨髓細胞増生機能に対して有意な影響は認められない。次にパラチフス A 菌毒素は腸チフス菌毒素に一致し、パラチフス B 菌毒素は大腸菌毒素に近似した成績を得た。以上より腸チフス菌毒素の骨髓白血球造血に対する障害作用は極めて強いことをたしかめ得た。

以上の成績より腸チフス症の白血球減少の成因としては、腸チフス菌毒素の骨髓に対する直接の障害作用が重要な因子の一つになつていゝと考えられる。

次に腸チフス患者血清を健康家兎骨髓に添加して、同血清の骨髓造血機能に及ぼす影響について研究したが、その私の成績では、本血清は家兎の骨髓白血球造血に対して障害作用の存在することを確めた。この腸チフス患者血清中には腸チフス菌毒素をも含んで居るであろうから、その影響も考えられるが、尚他の血清中の諸物質による影響ももとより除外するわけにはいかない。しかし何れにしても以上の実験を総合すると、生体内に於て本症の骨髓機能（白血球造血）を抑制する因子としては腸チフス菌毒素の骨髓に対する直接の作用が主要な役割を果していることが考えられる。

次に感染症の発症についての宿主対菌との組合せの関係は特異なもので、腸チフス菌は人以外の如何なる動物にも同様のチフス症を惹起し得ず、又家兎の腸チフス様疾病はパラチフス C 菌のみによつて惹起されるといわれている。勿論これは血液像に関するものではないが、腸チフス菌毒素の健康家兎骨髓と健康家兎骨髓に対する私の実験に於ても、両者の間に何か相異はないかと想像して観察したが、何の差異をも見出し得なかつた。即ち之により体外に取り出した一造血器に対する毒素の影響には種族特異性は存在しない事が明らかになつた。

次に従来より細菌学上パラチフス A 菌は腸チフス菌に、パラチフス B 菌は大腸菌に似た性質を有するといわれているが、私の実験成績（2, 3 編の成績を含む）に於ても同じような傾向を認めた事は誠に興味ある知見である。（表 32 参照）

表 32 腸チフス、パラチフス A, B, 大腸菌の鑑別培養基上の諸性状

鑑別培養基	腸チフス菌	パラチフス A 菌	パラチフス B 菌	大腸菌
牛乳凝固性	—	—	—	+
インドール産生性	—	—	—	+
葡萄糖分解性	+	⊕	⊕	⊕
ノイトラールロート還元性	—	—又は+(極微弱)	++(大腸菌より微弱)	卅
ラクムス乳清色調の変化	—	+微紅	+赤変	卅赤変
運動性	+	+	+	+
粘液堤形成	—	—	+	—

次に赤血球系について述べる。腸チフス症に於て貧血がくることは古来みとめられ、骨髓内に於ても Galinowski⁷²⁾、寒川²⁶⁾、村瀬⁵⁰⁾、横田⁵⁶⁾、下山²⁸⁾ 等が幼若赤血球の減少を認めている。しかしその成因については Heilmeyer⁷⁷⁾、Greenberg⁷⁴⁾、Rath

& Finch⁹²⁾、Davidson⁶⁴⁾、妹尾³³⁾、長谷川⁴⁸⁾ 等は何れも網内系に鉄が抑留されて、血清中に鉄欠乏を来たして貧血が起ると述べている。又 Gubler⁷⁶⁾ は腸管よりの鉄の吸収が減退するために血清中に鉄が欠乏するためであると述べている。しからば本症の

貧血が血清中の鉄欠乏のみが主因であろうか？換言すれば腸チフス菌毒素が骨髓内赤血球系に対して直接如何なる態度を示すかについては詳かにされていない。私はここに注目して実験を試みたわけであるが、私の成績によると赤血球増加率及び血色素増加量共に腸チフス菌毒素を初め、何れの毒素に於ても著明の影響を受けず、対照に比し軽度に低下している程度であつた。又毒素の濃度による影響も大したものはない。

以上の成績は骨髓内の赤血球に対しても、又血色素量に対しても直接細菌毒素が重要な影響を与えるものではないことを立証し得たものである。従つて本症の貧血は前述の Heilmeyer⁷⁷⁾、妹尾³³⁾等の主張するように網内系に於ける鉄の抑留及びその他の二次的反応が主役を演ずるものであらうと思われる。即ち私の実験は諸家の説を逆説的に裏付け得たものとして意義が深い。

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、次に大腸菌、腸チフス菌毒素を健康人骨髓組織培養に添加して組織増生に対する影響を、又同細菌毒素を健康家兎骨髓液体培養に添加して赤血球増加率並びに血色素増加量に対する影響を追求した。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、その骨髓組織増生に及ぼす影響を観察し、次の結論を得た。

1) 家兎骨髓増生機能を抑制する作用は腸チフス菌毒素がパラチフス A 菌毒素と共に最も強く、大腸菌毒素は殆んど影響を認めない。又健康人骨髓に対する腸チフス、大腸菌毒素の影響も健康家兎骨髓に対するそれに全く同じである。以上より腸チフス症の白血球減少の成因としては、腸チフス菌毒素の骨髓に対する直接の障害作用が主要な因子の一つになつてゐると考えられる。

2) 腸チフス患者血清中には健康家兎骨髓組織増生機能を直接抑制する因子の存在が認められる。

3) 健康家兎骨髓内赤血球及び血色素量に対する之等細菌毒素の直接作用は有意なものではない。従つて腸チフス症の貧血は従来の説の如き鉄の網内系抑留その他二次的反応が主役を演ずるものと推察される。

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. 1. Influences of toxins of S. typhi, S. paratyphi A, B and E. coli on the bone-marrow tissue culture of rabbits and human —by cover-slip method and culture in fluid medium—

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 as well as loading toxins of E. coli and S. typhi to the bone-marrow tissue culture of normal persons, the author studied the influences of these toxins on the tissue growth; and also by adding the toxins of the same bacilli to the bone-marrow

tissue culture of normal rabbits in fluid medium, pursued the influences on the increasing rate of erythrocyte count and hemoglobin content. Further, by loading the serum of patient with typhoid fever to the bone-marrow tissue culture of normal rabbits the author observed the influences of the serum on the tissue growth, and obtained the following results.

1. The toxins of *S. typhi* and *S. paratyphi* A and B both possess the action inhibiting the leucopoetic functions of the rabbit bone marrow to the greatest degree, while the toxin of *E. coli* shows hardly any effect. Moreover, the influences of the toxins of *S. typhi* and *E. coli* on the bone-marrow tissue of normal persons are exactly identical with those against the bone marrow of normal rabbits. From these results it is assumed that a direct action of the toxins of *S. typhi* disturbing the bone-marrow functions plays an important role in causing the leukopenia in typhoid fever.

2. It has been recognized that in the serum of the patient with typhoid fever there exist factors that directly inhibit the growth of the normal rabbit bone marrow tissue.

3. The direct action of these toxins on the erythrocytes and hemoglobin content in the normal rabbit bone marrow is not so significant. Therefore, the iron-retention in the reticuloendothelial system and another secondary reaction, which are the commonly accepted theory, seem to play a leading role for the anemia in typhoid fever.
