岡山大学医学部, 解剖学教室 (主任: 関教授).
Anat. Inst. d. Med. Fak., Univ. Okayama (Vorstand: Prof. M. SEKI).

組織溶血素產生の比較觀察.

Vergleichende Untersuchungen über die. Hämolysinproduction
verschiedener Gewebe.

堀江正義 Masayoshi HORIE.

〔昭和 27 年 9 月 20 日原稿受附.〕

抗体產生母地に関しては古くより幾多の研究がある. 岡崎 (1931) は免疫動物の諸組織から溶血素を, また木村 (1932) 等は培養組織からそれを証明したが, 皮下組織については実験されてゐない. 沢近 (1950) は家兎の皮下に大腸菌を入れ, 3—14 日後に皮下組織と脾の抽出液の殺菌力を比較し, 一定体積の皮下組織の線組系の諸細胞の総和と同体積の脾の細網細胞とそれに由来したものの総和が有する殺菌力を比べると, 皮下線組系のものが著しく強く, 殺菌物質を產生するものは線組球と組織球が主であることを見た. 又神坂 (1951) は生きた動物の器官と組織の中に特別の方法で細菌を止らしめ, 一定時のちこれを鏡検して, 局所の菌破壊物質產生に与る細胞としては網内系に属するもののほかに線組系の細胞があることを明らかにした. その他 Carrel (1924) は培養組織から組織球が正常溶血素を分泌することを証明してゐる.

私は山羊赤血球浮遊液を家兎に静注し, 皮下組織, 骨髓, 脾, 血清の溶血素產生を比較すると同時に, 皮下組織の細胞像を觀察することを試みた.

I. 材料と方法.

1. 免疫動物として体重 2,200—2,700g の成熟家兎を使用し, 免疫原は新鮮な山羊血球を以てし, これを耳静脈に注射した. 山羊血球は脱線維後に遠心器を利用して生理的食塩水で 3 回洗滌し, 食塩水で 10% の浮游液とし, 2, 3, 5, 7, 9, 11cc と順次増量しながら 4 日の間隔をおいて 5—6 回注射した. 最終注射 1, 3, 5, 8, 14 日後に採血し, 同時に脱血致死せしめて皮下組織, 骨髓, 脾を剔出し, その抽出液を作つた.

抽出液を作る法を詳しく云へば, 先づ免疫家兎の頸動脈から全採血を行ひ, 微温食塩水を頸動脈に注入し, 反対側の頸静脈を開放して, 血液を排出せしめ, かくしてよく内臓を洗ひ, 次で上記の諸組織を取り出して缺で

細かく切り、生理的食塩水で十分洗滌して血液を排除し、濾紙で余分の水分を除いた。次に各組織塊の等量を秤量し、これを乳鉢でよく細挫し、カルボールを0.5%含む食塩水を混和して10倍稀釈の抽出液を作った。

血清も上記の食塩水にて10倍稀釈血清を作った。

各抽出液と血清を30分間56°Cに置いて非働性とし、時々振盪しながら24時間氷室に保存した後、遠心沈澱し、その上澄を採つて実験した。抗原としては2.5%山羊赤血球浮游液を作り、又補体としては数頭より得た天竺鼠の血清を生理的食塩水で10倍に稀釈して使用した。

2. 皮下組織の顕微鏡標本は動物の腰部から皮下組織を採り、載せガラスに拵げ、10%のホルマリンに固定し、鉄ヘマテインラックで染めて作つた。

II. 実験成績.

A. 溶血価の測定.

血清と組織抽出液の2倍連続稀釈液0.5ccづつ入れた試験管に10%天竺鼠血清0.5ccを混じ、更に2.5%山羊赤血球浮游液0.5ccを加へて全量を1.5ccとし、各試験管毎によく混和して37°Cに置き、時々振盪しながら2時間ののち取出して溶血価を測定し、これを尙ほ翌朝まで室温に放置して精密に観察した。なほ対照として第1管は1/10の非働性被検血清または組織抽出液0.5cc、2.5%赤血球浮游液0.5cc、食塩水0.5ccを、第2管は食塩水0.5cc、2.5%赤血球浮游液0.5cc、1:10の補体0.5ccを混和

表 1. 能働家兎免疫の血清と組織抽出液の溶血価(±は弱溶血).

家 兎 番 号	体 重 (g) と 性	注 射 回 数	最 終 注射後 (日)	実験日 の 補体価	溶 血 価			
					血 清	骨 髄	脾	皮下組織
11	2,400 ♂	5	1	0.3	640	40	40±	20
4	2,500 ♂	5	1	0.3	1,280±	80	40	40
3	2,700 ♂	5	3	0.3	640	80	80	40
5	2,600 ♂	5	3	0.3	640	40	40±	20
8	2,600 ♂	5	3	0.3	1,280±	160	80	40
6	2,500 ♀	6	5	0.3	640	80	40	40
7	2,400 ♀	6	5	0.3	640	40	40	20
9	2,200 ♂	5	5	0.3	1,280	160	80	40
1	2,700 ♂	5	8	0.3	2,560	40	40	20
12	2,500 ♂	5	8	0.3	1,280	40±	40	20
2	2,500 ♂	5	14	0.4	2,560	80±	80±	20
10	2,200 ♂	5	14	0.4	1,280	40	40	20

した。また実験日の補体価をも測定した。

結果を比較し易いように、表 1 と 2 に血清と組織抽出液の溶血価、組織抽出液の溶血価の血清のものに対する百分率と比例を纏めた。

表 2. 組織抽出液の溶血価の血清のものに対する百分率と比。

家兎 番号	最 終 注射後 (日)	血 清		骨 髄		脾		皮 下 組 織	
		%	比	%	比	%	比	%	比
11	1	100	1	6.3	1/16	6.3	1/16	3.1	1/32
4	1	100	1	6.3	1/16	3.1	1/32	3.1	1/32
3	3	100	1	12.5	1/8	12.5	1/8	6.3	1/16
5	3	100	1	6.3	1/16	6.3	1/16	3.1	1/32
8	3	100	1	12.5	1/8	6.3	1/16	3.1	1/32
6	5	100	1	12.5	1/8	6.3	1/16	6.3	1/16
7	5	100	1	6.3	1/16	6.3	1/16	3.1	1/32
9	5	100	1	12.5	1/8	6.3	1/16	3.1	1/32
1	8	100	1	1.6	1/64	1.6	1/64	0.8	1/128
12	8	100	1	3.1	1/32	3.1	1/32	1.6	1/64
2	14	100	1	3.1	1/32	3.1	1/32	0.8	1/128
10	14	100	1	3.1	1/32	3.1	1/32	1.6	1/64

表 2 によると、組織抽出液の溶血価の血清のものに対する百分率と比は次の如くである。

骨 髄 抽 出 液 13—2%, 1/8—1/64

脾 抽 出 液 13—2%, 1/8—1/64

皮下組織抽出液 6—1%, 1/16—1/128

即ち溶血価は、血清>骨髓≥脾>皮下組織の順である。血清と組織抽出液の溶血素の量的関係には時間的に著しい変化が認められないが、各組織抽出液の溶血素は最終注射後 5 日まではやや増加し、8 日頃より漸次減少し始めたが、血清の溶血素は 5 日までは比較的少く、8 日頃よりやや増加した。

なほ対照として免疫しない動物の血清と諸組織が調べられたが、溶血素は何れの場合も認められなかった。

B. 皮下組織の鏡検。

皮下線組系の諸細胞の百分率を表 3 に示し、次に各時期の所見を述べる。

免疫前には Fbc (線維細胞) は全細胞の 81.5 %, Fbhsc (線組球) は 9.3 %, Hsc (組織球) は 8.8 %, Mnc (単核球) は 0.5 % 数へられた。

表 3. 能働免疫家兎に於ける最終注射後の皮下線組系諸細胞の%

	注 射 前	1 日 後	3 日 後	5 日 後	8 日 後	14 日 後
Fbc	81.5	68.3	65.3	68.3	72.5	76.3
Fbhsc	9.3	23.5	24.0	21.8	18.5	14.5
Hsc	8.8	8.3	10.3	9.3	8.5	8.8
Mnc	0.5	0	0.5	0.8	0.5	0.5

溶血素産生の最も強い1—5日後には組織は刺戟せられ、Fbcが減少する代りに Fbhsc が著しく増加し、諸細胞、特に Fbhsc と Hsc に空胞の増加が見られた。8—14 日後には Fbc が漸次増し、Fbhsc がやや減じて刺戟賦活せられた線組系は正常に復し始めるが、諸細胞に依然空胞が多い。

III. 考 察.

山羊赤血球浮游液で免疫せられた家兎の 10 倍稀釈の血清と組織塊に 10 倍の食塩水を加へて得た抽出液の溶血素の強さを順にならべると次の通りである。

血清>骨髓 $\geq$ 脾>皮下組織。

これは嘗て岡崎 (1931) が血清稀釈液と骨髓と脾の抽出液の溶血素産生を比較した結果と殆んど一致してゐる。表 1 によると皮下組織と脾の同体積の溶血素含有の平均値は 1: 2 である。然るに沢近 (1950) は家兎の皮下に大腸菌を入れ、3 日後の一定体積の皮下組織の線組系細胞 (線維細胞, 線組球, 組織球, 単核球, 白血球様細胞) の総和と同体積の脾の細網細胞とそれに由来したものの総和の体積の比は 1: 5.8 であることを見た。そこで皮下組織の線組系細胞の総和の一定体積と脾の細網細胞とそれに由来したものの総和の同体積が有する溶血素産生の比は約 2.9: 1 となる。即ち皮下線組系の細胞が脾のものの約 3 倍の溶血素を含有する。

また松井 (1951) の二十日鼠での計測によると、皮下組織の線組系細胞の全体積と脾の細網細胞の全体積の比は約 6.5: 1 であり、また全身の線組系細胞の全体積と脾の細網細胞の全体積の比は約 14: 1 である。これを考へれば、溶血素産生は脾よりも皮下組織の線組系に著しく強いことが分る。

なほ沢近 (1950) は家兎の皮下に大腸菌を入れ、殺菌物質産生の最も強かつた 3 日後の皮下線組系に於て 1mm³ 中に線組球は 17%, 組織球は 19% 数へ、その総体積の和が皮下組織全細胞の総体積の過半量を占めることを見た。私の薄膜標本に於いても、表 3 に見るやうに溶血素産生の最も強かつた 3 日後に於て線組球は 24%, 組織球は 10.3 % 数へたので、その総

体積の和が皮下組織全細胞総体積の過半量を占めることが容易に想像せられる。参考すべきは松谷（昭24）の所見で、氏は山羊血球で家兎を免疫し、家兎の皮下組織の組織球の山羊赤血球に対する超生体胞食能と溶血素は殆んど平行して消長し、胞食能の最も強いときは正常の約4.5倍となるのを見た。これ等の事実を考へれば、皮下で溶血素産生に与る主なるものは、明らかに線組球と組織球である。

IV. 結 語.

山羊赤血球を家兎に静注し、血清と骨髓、脾、皮下組織の抽出液の溶血素量を比較し、且つ皮下組織の細胞の変化を観察した。

1. 上記の組織抽出液の溶血素は最終注射後5日頃まではやや増加し、その後漸次減少したが、血清の溶血素は5日迄は比較的少く、8日頃から漸次増加した。

2. 10倍稀釈の血清と組織塊に10倍の食塩水を加へて得た抽出液の溶血素含有量の順は、血清>骨髓 $\geq$ 脾>皮下組織となる。

3. 組織の溶血素が細胞にあると見なし、皮下組織の線維細胞、線組球、組織球、単核球、白血球様細胞の総和の一定体積と脾組織の細網細胞とそれに由来したものの総和の同体積が有する溶血素の量を比較すれば、皮下組織の線組系細胞に著しく多く、約3倍である。

4. 異種赤血球の静注ののち、皮下組織の線組球と組織球が大いに増加し、線組球と組織球の総体積の和が皮下組織全細胞の総体積の過半量を占めた。そこで皮下で溶血素産生に与るものは主として線組球と組織球であることが推定せられる。注意すべきはこの兩種細胞の胞形質に著しく空胞が増したことである。空胞に溶血素が多いらしいが、その直接の証明はまだ行はれない。

Autoreferat.

Nach 5—6 maliger Injektion von Ziegenerythrocyten in die Vene des Kaninchens wurde die Menge des Hämolytins im Blutserum und im Extrakt von Knochenmark, Milz und Subkutangewebe untersucht. Das Hämolytin des Gewebsextraktes vermehrte sich bis zum 5. Tage nach der letzten Injektion, um dann allmählich abzunehmen, dagegen ist das Hämolytin im Serum bis zum 5. Tage verhältnismäßig wenig, vermehrte sich aber vom 8. Tage ab allmählich. Die Reihenfolge der Hämolytinnmenge im zehnfach verdünnten Blutserum und im mit zehnfacher physiologischer Kochsalzlösung erhaltenen Extrakt der Gewebe wurde schließlich: Serum > Knochenmark $\geq$ Milz > Subkutangewebe.

Der Hämolysingehalt in einem gesamten Volumen der Zellen des fibrohistiocytären Systems des Subkutangewebes (Fibrocyten, Eibrohistiocyten, Histiocyten, Monocyten und leukocytenähnliche Zellen) ist etwa dreimal so groß als in einem gleichen gesamten Volumen der Retikulumzellen und ihrer Abkömmlinge des Milzgewebes. Es ist also anzunehmen, daß die Summe des im fibrohistiocytären System des ganzen Tierkörper enthaltenen Hämolysins sehr groß ist.

Nach der intravenösen Injektion der artfremden Erythrocyten vermehrten sich beträchtlich die Fibrohistiocyten und Histiocyten im Subkutangewebe. Das Volumen der letzteren erreichte mehr als die Hälfte des gesamten Volumens der ganzen dort befindlichen Zellen. Die im Subkutangewebe das Hämolysin produzierenden Zellen müssen also hauptsächlich Fibrohistiocyten und Histiocyten sein.

文 献.

Carrel, A.: Leukocytic trephons. J. Amer. Med. Ass. 82 (1924). — 神坂修: 生きた動物での網内系と線組系の菌破壊の比較観察. 日組録. 2 (1951). — 木村廉: Mikrobiologische und immunologische Forschung unter Anwendung der Gewebezüchtung. Act. Schol. med. Kioto. 15 (1932). — 松井健三: 二十日鼠の線組系と網内系の総数と総体積の比較. 日組録. 2 (1951). — 松谷太郎: 網状織内皮細胞系の超生体赤血球貪喰能に関する研究. 日本体質誌. 14 (昭24). — 岡崎卓一: 能動免疫動物に於ける血液並に諸臓器越幾斯中の免疫体量的關係に就きて. 岡山医誌. 43 (1931). — 澤近宏: Effects of fibrohistiocytic system extract on bacteria. Arch. hist. jap. 1 (1950).