ON THE SENSITIVITY OF HAMSTER TO THE HUMAN AND MURINE LEPROSY BACILLUS

Tadayasu Tanimura, Shinji Nishimura and Keiji Ogita

(Department of Dermatology, Osaka University Medical School)

The suspension of fresh human leproma inoculated subcutaneously or intraperitoneally into 14 golden hamsters could not produce the positive results. The hamsters inoculated with the murine bacillus suspension gave rise to leproma under the skin, and the successive inoculation was successful. In the hamsters intraperitoneally inoculated striking multiplication of bacilli was recognized in the liver and spleen. But there develops a noticeable tendency that a small quantity of inoculated bacilli could not cause infection at the later generation.

癩の動物実験 (続報)

ハムスターの癩菌及鼠癩菌に對する感受性について

大阪大学医学部皮膚科教室

谷 村 忠 保
西 村 眞 二
萩 田 敬 次

は し が き

癩菌の動物接種については、数え切れぬほど多くの業績があるにもかかわらず、満足すべき陽性成績をまだ得ていない。鼠癩菌についても、これまた白鼠、マウス以外の試獣に感染せしめた例がない。最近日本でハムスターが、試験動物として供給されるようになったので我々はこれに対し、癩菌と鼠癩菌を接種しこの試獣が果して感受性を持つているかどうかについて調べたところ、癩菌接種は陰性に終つたが、鼠癩菌では陽性成績を得た。以下実験の経過と成績を報告し、且若干の意見を述べておきたい。

ハムスターは動物学上齧歯目、鼠科、クリセツス属で学名を *Mesocricetus (Cricetus) Auratus* 1893 (WATERHOUSE) と言い、金色短毛は優性、暗色長毛は劣性と言われている。我々は金色短毛の Golden hamster を使用した。

文献によると、最初英国で Sir Patrick Laidlaw がこれに鼠癩を感染させることに成功したので、S. Adler ①は人癩菌をこれに接種しそのうち脾臓を摘出した試獣

の4匹に6週間て菌の増殖を認めた、と報じた。これについて Etienne Burnet ②は Adler の実験を覆試し、同様に脾臓摘出したものと、健常のものについて皮下接種を行つたが、陽性成績は得られなかつたと発表した。また Doull 及 Megrail ③も Adler と同様な方法で、しかも多量の菌を皮下接種したが、多くの試獣は数ヶ月後に、局部の病巣は手に触れなくなり、少数例ではビオプシーによつて菌を認めたけれども陽性成績を思わせるほど、菌数、形態共に満足なものではなかつた、と述べている。このほか Muir and Henderson ④ Souza-Araujo ⑤, Dubois & Gavrillov ⑥, Lowe ⑦, Dharmendra & Lowe ⑧, Oteiza et al ⑨, 等もハムスターに癩菌を接種して大同小異の陰性成績を報告している。我国でも佐藤三郎教授⑩は脾臓摘出ハムスターに癩菌を接種したが陰性であつたと報告した。

鼠癩菌接種については Lowe ⑩が彼の綜説中にハムスターは家兎、海狸と同様に、接種部に病巣を作り数ヶ月間菌を証明出来るが、継代出来ないと言っている。けれども英国では同年に、Balfour Jones ⑪が陽性成績を可成り詳しく報告している。即ち若いハムスターの腹

腔内へ鼠癩菌の濃厚乳剤を注射したのに27週間後に動物は消瘦し、肝、脾は著しく腫大して多数の菌を見た。肺には間質に少数の菌を証明し、腎にもまた菌を認めた。同一材料を皮下注射したものでは、3週間後に、皮膚、肺、肝、腎、脾、睪丸に菌と病巣を認め、その結節はRatの場合と同様であつた。腹腔内接種Ⅰ代のハムスターを材料として、更にⅡ代のハムスターへ腹腔内接種して、肝、脾、腎に病変を起さしめた。また同様の方法で第Ⅲ代も成功した。覆元接種を行つて、これまた陽性成績を得ている。Muir and Henderson^⑩は Chinese Hamster を使つて鼠癩感染を試みたが、この動物は不感受性であつたと報告している。我国では1952年第25回日本癩学会で我々^⑩と同時に佐藤等も陽性成績を報告した。

以上のように人類菌では Adler が独り陽性成績を報じたのみで他の者は陰性に終り、鼠癩では Sir Patrick Laidlaw, Balfour Jones, 等が陽性成績を報じたに対し、Muir and Henderson 並に Lowe は陰性を報告している。

A 人癩菌接種

第1回実験：26/XI 1951, 癩結節は大島青松園の好意によつて分与されたもので、比較的新鮮な小結節である。これを生塩水20倍乳剤として 0.5ccづゝを、70~90g の健常ハムスターの皮下および腹腔に3匹づゝ接種した。1~3ヶ月の経過を以て剖検出来たのは併せて4であつた。うち皮下接種の2例では接種部に軽い結合組織の増生があり、鼠蹊淋巴腺の僅かな腫脹と共に少数の菌を認めたが、他には病変を認めなかつた。また腹腔内接種では脾臓と気管枝淋巴腺に少数のしかも形態の崩壊にかたむいたものを見出したが、他には病変を見なかつた。

第2回実験：19/I 1952年、当研究所にて採取した最も新鮮な癩結節を材料とした。生塩水20倍乳剤として皮下および腹腔内へ 0.5ccづゝを各々4匹に計8匹へ注射した。1~4ヶ月で殺或は斃死体について剖検し得たもの6例であつた。このうち皮下の4ヶ月目の1例では局部に帽針頭大の膿瘍が生じ菌は細胞外に少数づゝ集団して見られたがその形は崩壊したものが多かつた。淋巴腺および他の臓器には病変も菌も認めなかつた。腹腔接種の3例中3ヶ月経過の1例には大網に灰白色の粟粒大小結節が数個生じ、これに極少数の菌を認めたが他の臓器には病変も菌も共に見えなかつた。他の2例は2~3ヶ月経過したものであつたが、病変を全く見なかつた。

第3回実験：7/II 1952年当研究所にて摘出した新鮮な Leprom を20倍生塩水乳剤として0.5ccづゝを1匹は皮下へ、2匹は腹腔へ注射した。1~3ヶ月後に斃死また

は殺屍体について剖検した。この場合も1ヶ月後のものに僅かな脾腫を認めたのみで菌は見出し得なかつた。他の2例にも病変を見なかつた。

以上3回の実験を通じ健常ハムスター17匹に対し癩結節の20倍乳剤 0.5ccづゝを皮下または腹腔内へ接種し、1~4ヶ月経過後に剖検したが菌増殖の形跡なく癩性病変に似た変化さえ認めることが出来なかつた。

B 鼠癩菌接種

実験方法 初代は2/I 1951年、熊本株鼠癩肉芽を、生塩水にて $\times 20$, $\times 200$, $\times 2,000$ 乳剤とし、70~100g のハムスター9匹へ皮下注射 (0.5cc), 3匹へ腹腔注射 (0.5cc), 3匹へ睪丸内注射 (0.2cc) した。第2代は27/X 1951年初代皮下注射 No. 2 の皮下 Leprom から $\times 20$, $\times 200$, $\times 2,000$ 乳剤を作つて0.5ccづゝを6匹のハムスターに皮下接種した。第3代は27/XII 1951年、2代 No. 1 の皮下に生じた Leprom を $\times 100$ 乳剤として0.5ccづゝを皮下3匹、腹腔3匹へ注射した。試験は接種後に早く斃死したもの多く、1~6ヶ月間生存したものは約半数に過ぎなかつたが、これ等については病変の肉眼的観察並に塗抹標本による菌体の検索、組織標本による病理組織学的観察を行つた。

C 実験成績

初代接種成績

1) 皮下接種 9例中3~6ヶ月生存して成績が確実に判定出来たものは3例であつた。これによると、接種局所には0.3~0.7g の Leprom を形成し無数の菌増殖を見た (Fig 1) そしてこの肉芽は白鼠の場合よりは充血が強く、脆弱な感じを伴っている。淋巴腺は鼠蹊腺、腋窩腺が腫大充血して、これに多数の鼠癩菌を認めることが出来た。これも白鼠と較べればその程度が軽く且壊死病巣を見なかつた。臓器では脾腫が見られ菌は脾臓と肝臓に多く認められた。菌形は少々短小の感があつて、特に菌体顆粒が著しく濃染した顆粒のみ見られるものもある。組織標本では皮膚および皮下結合組織に菌を充満した鼠癩細胞から成る肉芽巣を認めた。(Fig 2) 淋巴腺では濾胞内に上皮様細胞から成る結節が島嶼状に発現し、これに菌を認めることが出来た。しかし白鼠の場合に較べてその数は極めて少数であり且壊死細胞巣を見ないのが一つの特徴である。(Fig 3)

2) 腹腔内接種 3例中4ヶ月を経て成績の確認できたのは1例であつた。本例は $\times 20$ 乳剤接種110日目に殺剖検したのであるが、この時試験は既に昏睡状態に陥つてから可成り長い時日生存していたものである。腹腔内接種時に汚染した局部の皮下にも可成り大きい癩腫を生じ潰瘍を形成していた。鼠蹊淋巴腺の充血腫大は勿論であるが、最も著明であつたのは脾および肝の腫大で、前

者は約5倍に腫大して煮肉色を呈し、後者は約2倍大で表面顆粒状を呈した。共に断面に血液少く実質脆弱であった。肺及腎臓には一見著変を見ない。塗抹標本では内臓淋巴腺及脾臓、肝臓には無数の菌を証明した。肝臓の組織標本では小葉中心静脈に沿うて菌を充満した巨噬細胞が生じまた豊富な形の鼠類細胞が肝実質内に腐蝕性に浸潤した。そして白鼠と異なる点は円形の結節病変を認めなかつたことである。(Fig 5) 脾臓では全体が鼠類細胞に埋まり、その構造は殆ど失われていた。こゝでは瀾胸の中心動脈に沿うて多く発現した。腎の標本では絲球体に特に多くの菌を見出した。(Fig 6)

3) 嚔丸内接種 この実験では3例とも充分に観察することが出来た。即ち $\times 2$, $\times 200$, $\times 2,000$ 倍乳剤注射の各例とも3〜6ヶ月で確実に感染した。先ず嚔嚔嚔丸は著しく萎縮、肉芽化し、こゝに無数の菌を証明した。淋巴腺は各部とも腫大充血して菌を多数に認め、脾は約5倍大腫大、肝もまた著しく腫大、肺、腎には一見して変化を認め難かつた。菌は淋巴腺および脾、肝には多数に証明出来たし肺臓および腎臓にもまた見られた例がある。嚔丸の組織標本では間質における鼠類細胞の増生とそこに無数の菌を証しこれがため細精管は圧迫萎縮に陥つていた。(Fig 7)

第Ⅱ代接種成績

初代皮下接種 No. 2 の *Leprom* を100日目に摘出し7匹のハムスターへ $\times 20$, $\times 200$, $\times 2,000$ 倍乳剤 0.5ccづゝ皮下注射した。2〜3ヶ月後にはいずれも局所に類腫を生じ淋巴腺の腫脹を認め多数の増生菌を証明したがまだ内臓には変化を認めなかつた。残りの3例は何れも類腫を生じていたが、その後の経過観察中に事故によつて致死し剖検の機会を失つた。

第Ⅲ代接種成績

Ⅱ代皮下注射 No. 16 の *Leprom* を $\times 100$ 液として、第Ⅲ代ハムスターへ皮下3匹、腹腔3匹へ注射した。このうち4匹は致死し皮下注射のもの1例(42日)、腹腔注射のもの1例(88日)を剖検したに過ぎなかつた。病変は日の浅いためにまだ充分特徴を示すまでに至らなかつたが皮下の場合は鼠類腺、腋窩腺に、腹腔接種の例では肝臓、脾臓にのみ多数の菌を証明出来た。

白鼠覆元接種成績

腹腔内接種4ヶ月後に無数の菌を証した肝臓から乳剤を作り $\times 2$, $\times 100$, $\times 1,000 \times 1$ 万, $\times 10$ 万倍としてその0.5ccづゝを10匹の白鼠へ皮下注射したところ、各倍数とも2ヶ月後に例外なく発症した。但し1万倍以上の組では類腫が稍小さく、発育にひまどつた。

總括及び結論

以上の成績をまとめると、

1) 人類の新鮮淋節を生塩水で20倍乳剤としてハムスターの皮下腹腔内へ0.5ccづゝ接種して、1〜4ヶ月後

に剖検したが、菌増殖の傾向なくまた類様病変も認めなかつた。

2) 熊本株鼠類菌の20〜2,000倍液をハムスターの皮下、腹腔、嚔丸内へ接種したところ、そこに菌の増殖を認め特徴ある鼠類病変を惹起した。

3) 継代接種では3代まで確実に陽性成績を得た。

4) ハムスターの初代 *Leprom* から白鼠への復元接種は20〜10万倍液でも例外なく発症した。

5) 菌形は稍々短小に変つた感じを受ける外特に目立つた点は菌体顆粒がチールネールセン染色で著しく濃染することである。そして顆粒のみのものも可成り多数に見受けた。

6) 病理組織学的には、各臓器とも間葉系組織を伝つて病変が拡大することは白鼠と同様であるが、淋巴腺には菌の増殖が稍々少くこゝに壊死巣を起さないこと、腹腔接種では脾および肝に高度の病変を起すことなどが、特記すべきことからである。

上述の所見によつてハムスターは鼠類菌に対し非感受性であるが、鼠類菌では3代まで感染せしめることに成功し、覆元接種も可能であつたから、この動物は鼠類菌に感受性があると言つて差支えないと思う。初めに述べたようにハムスターは鼠科動物の *Mesocricetus* 属で *Mus* 属(マウス) *Rattus* 属(白鼠)と同等の位置におかれたものであるから、この場合動物種属の閾を乗越えて他の動物へ感染せしめたのとは少し意味が違うが、ともかく実験動物の範囲を広め、多少でも違つた所見を見出すことによつて研究を深め、またこの動物では、肝臓および脾臓に菌の増殖が著しいから、白鼠の皮下 *Leprom* にも勝る多量の菌を獲得することが出来て、大量の菌を必要とする実験には好都合であるように思う。但し代を累ねるに従つて少量の接種菌では感染がむづかしい傾向があるのは注意を要する点である。

(この研究は文部省科学研究に費負う延大である。谷村)

文 献

- 1) Adler, S. : Lancet, 1937, 714.
- 2) Burnet, E. : Arch. de l'Inst. Pasteur de Tunis, 27, 327. (1938)
- 3) Douli, J. A., and Megrail, E. : Intern. J. of leprosy. 7, 509. (1939)
- 4) Souza-Araujo, : Ibid, 9, 63. (1941)
- 5) Dubois & Gavrilov, : Ibid, 11, 83. (1943)
- 6) Lowe, J., : Ibid, 13, 118. (1945)
- 7) Dharmendra & Lowe, : Ibid, 13, 182. (1945)
- 8) Oteiza, et al, : Ibid, 16, 299. (1948)
- 9) 佐藤三郎 : レプラ誌, 21巻4号. 15) (1952)
- 10) Lowe, J. : Intern. J. of leprosy 5, 43. (1937)
- 11) Balfour Jones, : Journal of Pathology and Bacteriology, 45, 739. (1937)
- 12) Muir and Henderson, : Indian Journal Medical Research, 15, 807. (1927-1928)
- 13) 谷村, 西村, 荻田 : レプラ誌, 21巻4号. 15) (1952)

Fig. 1

皮下接種Ⅰ代

6ヶ月で皮下に発生
した癰腫 (No. 2)

Fig. 2

皮下接種Ⅰ代

3ヶ月で皮下に出来
た鼠癰細胞と菌の増
殖

Fig. 3

皮下接種Ⅰ代

6ヶ月鼠蹊淋巴腺腫
胸の結節病巣
(No. 2)

Fig. 4
腹腔接種Ⅰ代
肝臓塗抹標本
著しく増殖せる菌

Fig. 5 腹腔内接種Ⅰ代 肝臓組織標本
中心静脈に接して現われた鼠類巨細胞

Fig. 6 腹腔内接種Ⅰ代
腎糸球体にある菌集団

Fig. 7
睾丸内接種Ⅰ代
睾丸間質の鼠類細胞
増殖と細精管の萎縮