Long-term Observation on the Development of Experimental Mouse Leprosy

YOICHIRO KAWAGUCHI AND YOSHIKO TAKAHASHI

(The Institute for Infectious Diseases, The University of Tokyo)

A long-term observation, up to 80 weeks, was carried out on the development of experimental mouse leprosy, concerning the relation between the clinical features of leproma at the site of inoculation and the evolution of visceral lesions.

Four mouse strains, C3H, C57BL/6, ddY and CF#1, were used for this experiment. Mice of these 4 strains were inoculated subcutaneously with 0.25 cc of a 1:1000 suspension prepared from subcutaneous leproma (the Hawaiian strain). The development of lepromata at the inoculation site was observed by palpation at intervals of 5 weeks until 80 weeks after inoculation and evaluated by their clinical features. And then 3 mice of each strain were sacrificed 20, 40, 60 and 80 weeks after inoculation to examine the extent of visceral lesions.

In strain C3H, the typical malignant course of the disease was followed throughout the observation period. The experimental animals died within 50 weeks, with extensive involvement of visceral organs.

In the mice of C57BL/6 strain, leproma at the inoculation site showed the benign type, and the late stage of infection, generally remained small with a tendency to regress. But 4 of 10 mice inoculated were extremely emaciated at the end of experiment and died in 55 to 80 weeks after inoculation, showing severe visceral lesions. In contrast, the visceral organs, except the lungs, of 2 mice sacrificed at 60 weeks revealed the presence of slight lesions.

The disease course of ddY strain was similar to that of C57BL/6 strain. It should be remarked that the lungs of ddY mice, sacrificed at 80 weeks, showed severe involvement, whereas lesions of the other organs were still slight.

In the CF#1 mice inoculated, all but one showed the benign type leproma at the inoculation site. Thereafter 3 of them were sacrificed at 40 weeks. Their lepromata were of the benign type, but the visceral lesions were severe, being comparable to those of the advanced case of C3H strain. The remaining 5 died within 45 to 55 weeks, with severe visceral lesions as observed in the malignant cases. The one exceptional case showed the typical malignant course and died in 35 weeks. From these results, subcutaneous infection with murine leprosy in CF#1 mice was found to give a disparity in the relation between the feature of leproma at the inoculation site and the involvement of visceral organs.

実験鼠癩の長期観察

川口陽一郎・高橋芳子

東京大学 伝染病研究所
第一細菌研究部（部長 本間遜教授）

（受付 1967年3月8日）

鼠癩菌をマウスの皮下に接種し、接種部に生ずる結節の性状を中心に、鼠癩病変の進展経過を詳細に観察して、実験鼠癩の病型分類を論じ¹⁾、又宿主感受性と病型の関係について検討してきた²⁾。

われわれは皮下接種鼠癩を良性型と悪性型に大別して、それぞれの経過を観察しているのであるが、疾患の性質上、観察に長期間を要することは云うまでもない。両病型間の経過に著明な差の生ずることも、又それぞれの内臓病変の進展経過が著しく異なることも、接種後30～40週まで観察を行ってはいじめて知りうることである。

ところで、このような長期の観察は両病型の典型的な例についてのみ行ったものであるが、これは先ず両病型間の差を明確にしたいとのわれわれの実験方針からでたものである。しかし、マウスの系統によっては、その病変が両病型の中間的な性質を示すものもないではない。そこで、このような例についても、同様な長期観察を行ってみなければならぬ。一応、C3H、C57BL/6、CF $\#$ 1 ddY の4系統を選び、これらの皮下に鼠癩菌を接種し、実験動物の大部分が死亡するまで観察を続けてみた。

実験材料および方法

1) 使用マウス

C3H : 典型的悪性型結節を生ずる系統。

C57BL/6 : 典型的良性型結節を生ずる系統。

CF $\#$ 1 : 強いて云えば良性型に入るが、中間的な経過をとる系統。

ddY : 良性型結節を生ずるもので、現在最も広く鼠癩の実験に使用されている系統。

以上4系統の雌を生後4週目に実験に用いた。

2) 鼠癩菌接種

悪性型の大結節（ハワイ株）を生理食塩水で1000倍乳剤とし、その0.25 cc をマウスの胸部皮下に接種した。（乳剤中の菌数、菌形、ともに正常範囲内にあり特記することなし）

3) 観察方法

接種後5週目より、5週おきに、80週まで、接種部に生ずる結節の性状を観察するとともに、20, 40, 60, 80週目に各群3匹宛を殺し、結節の性状、重量のみでなく、内臓諸臓器への菌分布をスタンプ標本により検査した。

実験成績

成績は系統別に表示したので、一応それについて説明する。

1) C3H : Table 1 に明らかなように典型的な悪性型経過をとった。その経過は既報¹⁾の例と大差がないので詳しくは述べないが、10週目では結節を触れなかったのに、15週目には明らかに軟い結節を触れ、20週目には悪性型の大結節がみられる。25週目には結節の大きさも最大となり、以後、結節に脱毛、潰瘍、痂皮などがみられるが、その大きさはあまり減じない。20週目の剖検では内臓病変は弱いものだが、40週目の内臓病変は著しく強度であって、45週をすぎ50週に至るまでには全例が死亡してしまった。又死亡例の内臓病変も当然のことながら極めて強いものであった。これらの点は既に報告した悪性型の経過とほぼ同様である²⁾。こゝでとくに強調したいことは、表をみれば分るように、個体差の著しく少ないことである。鼠癩の実験にわれわれが好んでこの系統を用いてきたことがよく分るであろう。

2) C57BL/6 : この系統は典型的な良性型の経過をとるものであるが、Table 2 に明らかなように、本実験においても全例みな良性型経過をとった。しかし、経過の観察を今回ほど長く行ったことがなかったため、前回までに得られなかったいくつかの知見を新に加えることができた。結節は接種後5週頃から触れはじめ、10週後には大豆大程度の硬い限局性結節を全例に触れる。15週後頃には結節の増大は一応停止し、以後結節は脱毛、潰瘍、痂皮の経過をとるが、その大きさにはあまり著明な変化がなく、癬痕状となって縮小に向う例が多い。20週

Table 1 The Course of Mouse Leprosy in Mice of C3H Strain (The mice were inoculated subcutaneously in the breast with 0.25 cc of a 1:1000 suspension.)

Mouse No.	Weeks after Subcutaneous Inoculation												Weight of Leproma & Disease Type	Development of Visceral Lesion							
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60		65	70	75	80	Lung	Liver	Spleen	Kidney
1	—	—	††M	K													600 M	—	—	+	—
2	—	—	††M	K													600 M	—	—	—	—
3	—	—	††M	K													500 M	—	—	+	—
4	—	—	††M	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	2430 M	††	††	††	††
5	—	—	††M	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	3280 CM	††	††	††	††
6	—	—	††M	††M	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	3360 CM	††	††	††	††
7	—	—	††M	††M	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	3100 CM	††	††	††	††
8	—	—	††M	††M	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	2970 CM	††	††	††	††
9	—	—	††M	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	1370 CM	††	††	††	††
10	—	—	††M	††M	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	2940 CM	††	††	††	††
11	—	—	††M	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	2860 CM	††	††	††	††
12	—	—	††M	††M	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	††AM	2600 CM	††	††	††	††

M: Malignant Type, B: Benign Type, A: Alopecia, U: Ulcer, C: Crust, S: Scar, K: Killed, D: Died; o: Color change to white.

Table 2 The Course of Mouse Leprosy in Mice of C57BL/6 Strain

Mouse No.	Weeks after Subcutaneous Inoculation																Weight of Leproma & Disease Type	Development of Visceral Lesion			
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80		Lung	Liver	Spleen	Kidney
1	—	†	AB	†	SB	K											40 SB	—	—	†	—
2	—	†	AB	†	AB	K											90 AB	—	—	—	—
3	—	†	B	†	B	K											100 SB	—	—	†	—
4	—	†	B	†	AB	†	AB	†	AB	†	SB	†	SB	K			200 SB	†	†	†	—
5	—	†	B	†	AB	†	SB	†	SB	†	SB	†	SB	K			240 SB	†	†	†	—
6	—	†	B	†	AB	†	AB	†	CB	†	SB	†	SB	K			300 SB	†	†	†	—
7	—	†	B	†	AB	†	SB	†	UB	†	UB	†	UB	†	UB?	†	UM? D	†	†	†	—
8	†	†	B	†	B	†	B	†	AB	†	SB	†	SB	†	SB	†	†	†	†	†	—
9	—	†	B	†	AB	†	AB	†	AB	†	SB	†	SB	†	SB	†	10 SB	†	†	—	—
10	—	†	B	†	B	†	SB	†	SB	†	SB	†	SB	†	SB	†	390 SB	†	†	—	—
11	—	†	B	†	AB	†	SB	†	SB	†	SB	†	SB	†	SB	†	160 CB?	†	†	†	—
12	—	†	B	†	SB	†	SB	†	SB	†	SB	†	SB	†	SB	†	570 CB?	†	†	†	—

後の剖検所見でも内臓病変はかなり弱いものである。なおこれらの所見は既に報告したものとほぼ同じである¹⁾。ところが、40週後の剖検では興味ある所見が見出された。この場合も、肝、脾、腎の病変はあま進んでいないが、肺の病変はかなり進んでおり、3例中2例の病変は著しく強度であった。更に観察を続けると中には一般状態の悪くなるマウスがでてき、これらの結節は再び増悪に向う。しかし、これらも示指頭大程度にとどまり、悪性型結節のように大きくはならない。この病変が再度増悪した例では、結節の性状が典型的良性型とは云い難い像を呈し、55週から60週頃に2例が死亡したが、これらの内臓病変は著しく強く、悪性型例と大差がなかった。これに対して60週後に良性型経過をとってきた2例を剖検したところ、これらの肝、脾の病変は20週後の剖検所見と大差がなかった。典型的良性型経過をとっている間は一般に内臓の病変はあまり進まないものと考えてよからう。たゞし、肺ではこれらと異なり強度の病変を見出した。肺にはあまり強い病変の進展抑制がないのであろう。以後更に観察を続けると、残りの2例も結局70週から80週後頃に死亡したが、この中の1例は内臓病変が著しく強度であり、他の1例では肺にのみ強度の病変がみえ、その他の臓器の病変はあまり進んでいなかった。以上の点からみて、良性型経過をとっている限り、多くの場合内臓病変の進展は一般に著しいものではないが、この場合も、肺では病変が進行してゆく。これが鼠癩の特徴と云えよう。以上述べたように、C57BL/6系は管理がやや難しいためか、一般状態の悪くなる例があり、これらに病型転換を思わせる例がみられた。一見自然治癒に向うようにみえても、実際に自然治癒することはなかなか難しいように思われる。

3) CF#1: この系統は今迄にもよく用いられているが、30週をこえる観察の経験はない。今回長期観察を行って、この系統のもつ新たな特徴を知ることができた。このCF#1マウスは中間的な感受性を示すとは云え、結節性状はどの例でも良性型に入るものであったが、今回の実験例中の1例は典型的悪性型経過をとり、35週をまたずに死亡した。しかしこれ以外の例の接種部に生じた結節はみな良性型性状を示し、10週には明瞭な結節を触れ、15週前後で小指頭大程度の大きさに達し、以後脱毛、潰瘍、痂皮の経過をとるが、大きさにはとくに変化がない。これらの点は従来の成績³⁾とあまり差はなく、結節の性状からみると終始典型的良性型経過をとるようみえる。ところが、Table 3にみるように、40週目の剖検成績では全例総て著しく強い内臓病変を示した。又

45週前後から死亡しはじめ、55週までに全例が死亡し、死亡例の内臓病変はC3H系の例と同程度に強いものであった。この系統では、接種部の結節が良性型であるのに、内臓病変は悪性型を思わせるほど強度にまで進むことがその特徴としてあげられよう。

4) ddY: この系統については今迄にも多くの報告があり、今回もその成績は既報^{1,2)}のものと大差はなかった。こゝでとくに述べておきたいのは、接種後80週の剖検例で、肝、脾、腎の病変が弱いのに、肺のみ強度の病変がみられることである。この点はC57BL/6系の例とよく似ている。

考 察

典型的悪性型経過をとるC3H系、及び典型的良性型経過をとるC57BL/6系については、今迄にも比較的長期の観察が行われているので、とくにとりあげるほどの知見はなかった。ただC57BL/6系のような典型的良性型経過をとる例でも、接種後時がたち、マウスの一般状態が悪くなると、良性型から悪性型への病型転換を思わせる例のあることは見逃せない。このことは、何時も云うように、鼠癩の病型は宿主の抵抗力と侵入菌の菌力との均衡の上に立つものであり、不変なものでないことをよく示している。又ddY系の成績はC57BL/6系の例とよく似ている。この系統は管理が容易でマウスの健康状態もよかったので、80週までに殆んど死亡例がなかった。長期の良性型病変を観察する面では時によりC57BL/6系より好都合な場合もあろう。

本実験で特記すべきことは、従来、病変の進展経過、結節性状などから一応中間的な性質をもつものとしてとりあつてきたCF#1系において、接種部に生ずる皮下結節が良性型であるのに、時とともに内臓病変が著しく強度になると云うことである。われわれは今迄に多くの系統の鼠癩菌感受性を検討して良性型結節をもつマウスの内臓病変は弱く、悪性型の場合は強いことから考えて、接種部病変と内臓病変はほぼ平行するものと信じてきた。しかし、CF#1系のように平行しない例のあることを思えば、まだまだ鼠癩菌に対し特色ある態度を示す系統があるかも知れず、一層の検討が必要なることを痛感する。CF#1系において実験例中の1例が典型的な悪性型経過をとったこと、又他の大部分の例では接種部に充分な免疫の発生をみ、良性型結節を生じたのに、内臓には免疫力の発現を殆んど見出せず、悪性型とも云うべき重篤な内臓病変にまで進んでしまったことなどを思えば、CF#1系では宿主の獲得する抵抗力はあまり強くは

Table 3 The Course of Mouse Leprosy in Mice of CF#1 Strain (The mice were inoculated subcutaneously in the breast with 0.25 cc of a 1:1000 suspension.)

Mouse No.	Weeks after Subcutaneous Inoculation																Weight of Leproma & Disease Type	Development of Visceral Lesion			
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80		Lung	Liver	Spleen	Kidney
1	—	+	++M	+++M	+++UM	+++CM	D														
2	—	++B	+++B	K														+	+	+	—
3	—	+++B	+++AB	K														+	+	+	—
4	—	+++B	+++AB	K														+	+	+	+
5	—	+++B	+++AB	+++AB	+++AB	+++AB	+++AB	+++AB	K									+++°	+++°	+++°	+++°
6	—	+++B	+++B	+++SB	+++UB	+++SB	+++CB	K										+++°	+++°	+++°	+++°
7	—	+++B	+++B	+++AB	+++AB	+++AB	+++CB	K										+++°	+++°	+++°	+++°
8	—	+++B	+++B	+++AB	+++AB	+++AB	+++SB	+++CB	D									+++°	+++°	+++°	+++°
9	—	+++B	+++B	+++AB	+++AB	+++AB	+++AB	+++CB	+++UB	D								+++°	+++°	+++°	+++°
10	—	+++B	+++BB	+++SB	+++SB	+++SB	+++SB	+++SB	+++UB	D								+++°	+++°	+++°	+++°
11	—	+++B	+++B	+++AB	+++AB	+++AB	+++CB	+++SB	+++UB	D								+++°	+++°	+++°	+++°
12	—	+++B	+++AB	+++SB	+++SB	+++SB	+++SB	+++SB	+++CB	D								+++°	+++°	+++°	+++°

Table 4 The Course of Mouse Leprosy in Mice of ddY Strain

Mouse No.	Weeks after Subcutaneous Inoculation																Weight of Leproma & Disease Type	Development of Visceral Lesion			
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80		Lung	Liver	Spleen	Kidney
1	—	+B	+B	K													10 B	—	—	+	—
2	—	+B	+B	K													20 B	—	+	+	+
3	—	+B	+B	K													190 AB	—	+	+	—
4	—	+B	+B	+	+	+	+	+									20 B	—	—	—	—
5	—	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	K								390 SB	+	—	+	+
6	—	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	K								480 SB	+	+	+	—
7	—	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	K				100 SB	+	+	—	—
8	—	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	K				400 SB	+	+	+	—
9	—	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	D		60 UB?	+	+	+	—
10	—	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	K	80 CB	+	—	+	—
11	—	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	K	70 SB	+	—	+	—
12	—	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	+B	K	10 B	+	+	+	—

なく、侵入した鼠癩菌の増殖力との間に極めて微妙な関係がなり立っているのであろう。この点からも、あらためて CF#1 系を中間的性質をもつ系統としてあげることができよう。又、この CF#1 系の特徴は鼠癩の免疫実験に際し興味ある態度を示すのではないかと考えている。

結 語

われわれは皮下接種鼠癩において30～40週程度の観察を行い、病型を中心に病変の進展経過を検討してきたのであるが、なお観察を続けると今迄知らなかったいくつかの所見を得ることができた。そこで、更に長期にわたる観察を行ってみた。

実験に用いた系統は C3H, C57BL/6, CF#1, ddY 系で、ハワイ株結節の1000倍乳剤 0.25 cc を胸部皮下に接種し、接種後80週まで接種部病変と内臓病変の比較を中心に観察した。

C3H 系は悪性型の、C57/BL/6, ddY 系は良性型の経過をとり、それぞれ従来の成績とあまり差はなく、極めて長期間の観察で、良性型例において、肝、脾の病変が弱いのに、肺にのみ強い病変がみられた例の多いことを

挙げておく。

ところが、CF#1 系では接種部に生ずる結節の性状が終始良性型であるのに、内臓病変は徐々に悪化し、40週以後は C3H 系の例と同程度にまで重くなり、これらはみな C3H 系よりやや遅れて死亡した。このように接種部の病変と内臓の病変の進展が大きく食い違った例は経験がない。この点を重視し、他の系統についても更に検討したい。

終りに御校閲を戴いた本間教授に感謝する。

文 献

- 1) 川口陽一郎：実験鼠癩の病型分類について、レブラ, 28, 378～390, 1959.
- 2) 川口陽一郎：鼠癩における宿主感受性と病型の関係（第38回日本癩学会総会特別講演）、レブラ, 34, 181～198, 1965.
- 3) 川口陽一郎：鼠癩の実験に用いるマウスの系統に就いて（第1報 均一系マウスの鼠癩に対する感受性）、レブラ, 26, 318～324, 1957.