Growth Patterns of Crude and Purified Myc. Lepraemurium in Subcutaneous Tissues of Mice

YUTAKA MITSUFUJI AND MASAHIRO NAKAMURA

Department of Microbiology, Kurume University School of Medicine, Kurume, Japan

The growth patterns of Myc. lepraemurium that followed inoculation of crude and purified bacilli into subcutaneous tissues of mice were observed by means of the spread tissue preparations which was described by Kawaguchi.

The growth patterns of the bacilli in mice were divided into two types; (1) the type of inoculation of crude bacilli; i.e. the growth of bacilli at the extracellular and intracellular sites. (2) the type of inoculation of purified bacilli; i.e. only intracellular growth of bacilli. The former type includes the cases of inoculations of purified bacilli into dd-mice, inoculations of crude bacilli into C₃H-mice, and inoculation of bacilli purified from rat leproma, containing subcutaneous tissues of C₃H-mice and rat. On the other hand, experimental results obtained in the cases of inoculation of crude bacilli into dd-mice, and of bacilli purified from rat leproma, containing the subcutaneous tissues of rabbits and guinea-pigs, were belonged to the latter.

精製鼠癩菌と粗鼠癩菌とのマウス体内における増殖態度*

光 藤 坦・中 村 昌 弘

久留米大学医学部微生物学教室細菌学講座（指導：中村昌弘教授）

（受付 1967年3月4日）

マウスの個体、並に系統によって鼠癩菌の感受性が著しく異なることは周知のことであるが、この原因は不明である。恐らく人癩の感染に於ても、ヒト間の個体差によって、人癩の発症が左右されている感がないでもない。人癩菌の動物移植実験に際しても、最近 Shepard¹⁾ によって人癩菌のマウス足趾内増殖が報告されているとはいえ、人以外の動物に人癩同様の病変を再現しうる可能性は今のところ乏しい。この原因が人癩菌に対する他動物の反応、即ち免疫の短期間に於る獲得と考えるむきもある。

そこで、ここでは鼠癩菌を用いて、それを精製した状態、即ち感染組織をできるだけ除去した状態でマウスに感染させた場合とそうでない状態で感染させた場合とでマウス内に於る鼠癩菌の増殖様相が異なるか否かを検討し、人癩並に鼠癩の動物実験の一資料とした。この実験を行うに当って、ここに誠に好箇の実験方法がある。それは川口等^{2,3)} によって開発された伸展標本法であり、これを用いて鼠癩菌のマウス体内に於る増殖像を観察した。

実験材料並に方法

供試鼠癩菌：マウス (dd 系) 並にラット (Wistar 系) 皮下に接種され、3～6ヶ月後に生じた熊本株鼠癩腫を用いた。普通はこれを滅菌乳鉢でよくすりつぶし、生塩水で約10%の乳剤にし、低速心した上清を用いた。

鼠癩菌の精製法：中村等⁴⁾ によって前に報告したトリプシンと Desoxycholate による方法によって鼠癩菌を感染組織より分離し、精製した。

供試動物：dd 系並に C₃H 系マウス

増殖観察用の標本作製法：川口等^{2,3)} の方法による伸展標本法を用いた。

実験成績

I. 粗並に精製鼠癩菌のマウス皮下組織における増殖態度。

粗並に精製鼠癩菌乳剤をマウスの皮下へ接種して、“0”，5，10，15及び20日毎にその部の伸展標本作製して鼠癩菌の増殖像を観察した。接種部位は接種位置の混乱をさけるために両耳間の皮下を選んだ。

接種材料は下記のスケジュールに従った。

- 1) 100倍稀釈粗鼠癩菌菌剤
- 2) 100倍稀釈精製鼠癩菌乳剤
- 3) 50倍稀釈精製鼠癩菌乳剤に等量の正常マウス皮下組織乳剤を加えたもの。
- 4) 加熱粗鼠癩菌乳剤

このような接種材料を用いると粗鼠癩菌乳剤接種群では細胞への菌のとりこみが良くなく、細胞外にも多数の菌を認めるのに反して、精製鼠癩菌乳剤接種群では細胞内への菌のとりこみが極めて良好で、菌の localization が細胞内に限られている。精製菌にマウス正常組織を混和して接種した群では、これに対して、粗鼠癩菌乳剤を接種した所見に近い像を示していた。加熱鼠癩菌接種群では全般的に菌が減少するためか、細胞内及び外の菌数が少いが接種後15日より細胞内菌のみを見る所見になり細胞外の菌が認められなくなる。ただこの場合は細胞内の菌形が接種後20日になっても延長を来さず、硬い形態の集合として認められる。これらの様相を第1，2，3及び4の写真に示し、その代表的所見を第1図にまとめた。

II. ラット鼠癩菌乳剤の dd 系マウス及び C₃H 系マウスにおける増殖態度。

ラット皮下に実験的に感染させて生じた鼠癩腫より作製した粗乳剤を dd 系マウスと C₃H 系マウスに接種してその増殖態度を観察した。その所見は写真5及び6に示すように、dd 系マウス体内でのラット・レプローム

* 本研究は文部省科学研究費総合研究「癩菌の動物移植」によった。

粗ソライ菌と精製ソライ菌のマウス体内増殖

接種後 (日)	粗ソラ イ菌	精製ソ ライ菌	精製菌＋ 正常組織	加熱ソ ライ菌
0
5
10
15
20

菌の増殖態度はマウス・レプローム内の粗菌乳剤を dd 系マウスに接種した場合によく似て、細胞の菌のとりこみが悪く、細胞外に多数の菌が存在していた。これに反して、ラット・レプローム菌を C_3H 系マウスに接種した場合の増殖像は精製鼠癩菌を dd 系マウスに接種した所見に酷似し、菌は細胞内に完全にとり込まれ、細胞内で綺麗な配列をなして増殖している像が認められた。従って C_3H 系マウスの細胞は鼠癩菌を選択的に食菌する能力をもっているものと思われる。

Ⅲ．精製ラット鼠癩菌乳剤に他種動物皮下組織を添加したものを接種した場合の増殖像。

ラット皮下鼠癩腫を精製して菌を分離して精製鼠癩菌としたものに等量の生塩水、10% C_3H 系マウス皮下組織乳剤、10%ラット皮下組織乳剤、10%家兎皮下組織乳剤及びモルモット皮下組織乳剤を加えたものを dd 系マウスに接種してその増殖像を観察した。

その所見を総括すると、次の2群に分れた。(1) 精製鼠癩菌＋生塩水、精製鼠癩菌＋10% C_3H 系マウス皮下組織乳剤、精製鼠癩菌＋10%ラット皮下組織乳剤の3群は細胞内に菌がよくとり込まれ、細胞外の菌が少く、精製鼠癩菌をマウスへ接種した増殖像に酷似した。(2) 精製鼠癩菌＋10%家兎皮下組織、及び精製鼠癩菌＋10%モルモット皮下組織乳剤の2群は粗鼠癩菌乳剤をマウスに接種したのと同じ増殖像を示した。この所見からみれば鼠癩菌に感受性ある C_3H 系マウス及びラットの皮下組織は鼠癩菌の細胞内侵入と増殖をさまたげないか、或

は発育促進作用があるように思われるし、逆に家兎とモルモットの皮下組織は鼠癩菌の細胞内侵入と増殖を阻止する作用があるように考えられる。

考 察

川口²⁾は鼠癩の病型を2型に分けた。即ち良性鼠癩型と悪性鼠癩型であるが、前者は $C_{57}BL/6$ 系マウスに鼠癩菌が接種された場合の所見であり、結節は早期に触れるが、決して大きくならないもの、後者は C_3H 系マウスに接種された場合の所見で、結節の触れる時期は遅いが、遂には大結節となるものである。

川口²⁾は更に伸展標本法を用いて $C_{57}BL/6$ 系マウスに鼠癩菌が接種された場合の増殖像と C_3H 系マウスに接種された場合の増殖像とを比較しているが、早期増殖像では、両者の間に差がなく、長期観察によってその差がつけられることを認めて、同氏の良性型病変を作るマウスは鼠癩菌に対して強い免疫を作る性質を先天的にもつものであるという自説に支持を自ら与えている。

しかし、ここで述べた実験成績によると粗鼠癩菌乳剤と精製鼠癩菌乳剤とを dd 系マウス皮下に接種した場合では、明らかに増殖像の差異が認められる。即ち前者では菌は単核細胞内に雑然と侵入し、細胞外にも多数の菌が認められるが、後者では細胞外菌は少く、細胞内に入った菌は整然と配列し、その中で増殖する像が認められる。接種後の時間を追うと前者では Globi の形成が少く、且つ遅れるのに反して、後者では早期より Globi として鼠癩菌が発育し菌数も極めて多い。

これを考察するに、前者が良性型鼠癩に似て、後者が悪性型鼠癩に酷似している。

前者に属する実験群としては(1) 粗マウス鼠癩菌乳剤を dd 系マウスに接種した場合、(2) ラットに生じたレプローム乳剤を dd 系マウスに接種した場合、(3) 精製ラット・レプローム鼠癩菌乳剤に家兎及びモルモット皮下組織乳剤を加えたものを dd 系マウスに接種した場合。

後者に属する悪性鼠癩像を呈する実験群としては(1) 精製マウス鼠癩菌乳剤を dd 系マウスへ接種した場合、(2) ラットレプローム乳剤を C_3H 系マウスへ接種した場合、(3) 精製ラットレプローム乳剤に生塩水、 C_3H 系マウス皮下組織乳剤、及びラット皮下組織乳剤を混和して dd 系マウスへ接種した場合である。

以上のことから考察されることは、鼠癩の発症が良性に進む場合と悪性に進展する場合の差は接種菌を受ける側の反応性にあるものと思われるが、その反応を惹起す

る物質は、鼠癩菌をとりまく組織であって菌体そのものではなからうと思われる。将来この点、なお詳細な研究を必要とするが、以上の所見は鼠癩の発症、ひいては人癩の発症機作に寄与するものと思われる。

結 論

粗製鼠癩菌乳剤と精製鼠癩菌乳剤とをそれぞれ、マウス皮下に接種して伸展標本によりその後の増殖像をみると次の2型に分れる。

(1) 単核細胞により極めてよく食菌され、細胞外菌の存在が少く恐らく直ちに Globi として伸展するもの。

(2) 単核細胞によく食菌されず、組織反応が強く菌は細胞外にも多数認められ雑然たる食菌像を認めるもの。

(1) はマウス・レプローム精製菌接種及びラット・レプローム菌が C₃H 系マウスへ接種された場合、並にラット・レプローム精製菌に C₃H 系マウス或はラット・皮下組織を添加したものを接種した場合にも見られ、(2) はマウス・レプローム粗製菌及びラット・レプロ

ーム菌が dd 系マウスへ接種された場合並にラット・レプローム精製菌に家兎或はモルモット皮下組織を添加したものを接種した場合にも見られる。

文 献

- 1) Shepard, C.C.; The experimental disease that follows the injection of human leprosy bacilli into foot-pat of mice, J. Exper. Med., **112**, 445-454, 1960.
- 2) 川口陽一郎：鼠癩菌増殖の早期確認，モダン・メディカ，**10**，380—386，1964.
- 3) 川口陽一郎，広瀬芳子，高坂健二：伸展標本による鼠癩菌増殖の早期確認，レプラ，**33**，276—282，1964.
- 4) 中村昌弘，上野由恵：鼠癩菌の簡便且つ無菌的集菌法，日本細菌学雑誌，**18**，75—75，1963.
- 5) 川口陽一郎：実験鼠癩の病型分類について，レプラ，**28**，378—390 1959.

光 藤 ・ 中 村 論 文 附 図

写真1 粗鼠癩菌乳剤を dd マウス皮下に接種した伸展標本（接種後10日目, 1000×拡大）

写真2 精製鼠癩菌乳剤を dd マウス皮下に接種した伸展標本（接種後10日目, 1000×拡大）

写真3 同上接種後20日目, 700×拡大

写真4 同上接種後20日目, 700×拡大

写真5 ラット・レプローム菌を dd マウスに接種した伸展標本, 700×拡大

写真6 ラット・レプローム菌を C₃H マウスに接種した伸展標本, 700×拡大