The Behavior of Murine Leprosy Bacilli in Guinea-pigs
(Part 2) The Growth Pattern of Murine Leprosy Bacilli
Subcutaneously Inoculated in Guinea-pigs

YOICHIRO KAWAGUCHI

The Institute of Medical Science, The University of Tokyo

It is essential to study on the relation between macrophage and parasite in murine leprosy. However, in the previous experiments (Part 1) no finding could be obtained, concerning the macrophage-parasite relationship, although multiplication and viability of the bacilli were estimated by counting of the bacilli and reverse transfer. Therefore we have conducted the following experiment with regard to the macrophage-parasite relationship.

Guinea-pigs were subcutaneously inoculated in the back with suspension of murine leprosy bacilli. With intervals of 5 days, the subcutaneous connective tissues at the inoculation site were removed and spread on a glass slide and the behavior of the bacilli within mononuclears was examined. After 5 days, elongation of the bacilli was observed in mononuclears, and 15 days later many enlarged mononuclears filled with the elongated bacilli appeared at the site of inoculation. From the findings of this observation and of reverse transfer, it seemed that the growth patterns of murine leprosy bacilli subcutaneously inoculated into the guinea-pigs were identical with those in mice until 15 days after inoculation. But from then on infectivity of the bacilli in the guinea-pigs became remarkably reduced with time. After 30 days, non-lepromatous granuloma appeared at the inoculation site and the number of bacteria was significantly decreased.

Similar experiment; inoculation from Kirchner's medium back to the mouse, was performed to examine the viability of the in vitro cultured organisms. Elongation of the bacilli occurred in Kirchner's medium, but viability of the in vitro cultured bacilli was excessively reduced with time.

Based on these observations we have considered that macrophages of guinea-pigs play a role in multiplication of murine leprosy bacilli only in a short duration (about 15 days). It is desirable to prolong that short duration for development of the study on transmission of murine leprosy to guinea-pigs, although no significant result was obtained in our attempts under present conditions.

モルモット体内における鼠癩菌の態度

(第2報)モルモットの皮下に接種された鼠癩菌について

川 口 陽 一 郎

(東京大学 医科学研究所)

(受付 1968年12月12日)

鼠癩においては Macrophage と菌の 関係 を研究することがとくに重要である。しかし、前報¹⁾に述べた実験方法では、菌数計算と還元接種により、接種された鼠癩菌の増殖の有無と発症力の強弱についての検討はできても、Macrophage と菌に関連しての所見は全く得ることができなかった。

われわれはマウスの皮下に接種された鼠癩菌の初期増殖像を検討する際、伸展標本による観察を試みて、菌と単核細胞との関連を中心に多くの知見をうることができた²⁾。そこで、今回は鼠癩菌をモルモットの皮下に接種し、この部の伸展標本について観察するとともに、還元接種も行つて菌の発症力についても検査し、接種された鼠癩菌が時とともにどのような態度をとるかを検討することにした。

実験材料および方法

白色、雌、体重約250 g のモルモットの背部皮下に鼠癩菌ハワイ株結節の200倍生理食塩水乳剤の1.0ml を接種し、接種後1, 5, 10, 15, 30日目に2匹を殺し、伸展標本による観察とマウスへの還元接種を行った。

1) 伸展標本：モルモットの背部皮膚を70%アルコールでよくふき、鋏を用いて皮膚を反転し、接種部より皮下織の小片をとり、鋏の尖端でスライド上にうすく捻げる。乾燥、固定後、Ziehl-Neelsen 法で染色した。この

伸展標本により顕微鏡下で細胞と菌の関係を観察した。

2) 還元接種：伸展標本作成のため、皮下織を少々とり去つた後に、この部の皮下織を缺でできるだけよくかきとり、乳鉢で磨砕し、1匹分に2.0ml の生塩水を加えて乳剤を作った。2匹分の乳剤を集め、軽く遠心して粗大な組織片を除き、この上液を還元接種に用いた。還元接種の方法は第1報¹⁾に述べた方法と同じである。

実験成績

1) 伸展標本：1日後には単核細胞ばかりでなく、多核球も含めての細胞浸潤が接種局所にみられる。Fig. 1 及び Fig. 2 にみるように接種材料の菌と同じような短い菌が単核細胞ばかりでなく、多核球内にもよくとり込まれている。5日後には多核球は減少し、単核細胞内の菌に Elongation がみられる。10日後には、Fig. 3 及び Fig. 4 にみるように、単核細胞内で長い菌が少し数を増したようであり、菌長は初めの2~3倍になつている。15日後になると、Fig. 5 及び Fig. 6 にみるように、長い菌の充満した単核細胞が多く、この像は鼠癩の初期増殖像と極めてよく似ている。しかし、30日後には非癩性の肉芽腫が接種部にできてくるため、伸展標本は作り難く、この時期に作った標本上には菌をとり込んだ単核細胞は非常に少くなっている。肉芽腫内にはかなりの数の抗酸菌が見出されるが、鼠癩結節のそれと比べればはるかに

Fig. 1 and Fig. 2 Spread tissue preparations (S. T. P.) made 1 day after inoculation: Short rod shaped bacilli, similar to those of inoculum, are ingested not only in mononuclears but also in polymorphonuclears.

Fig. 3 and Fig. 4 S. T. P. made 10 days after inoculation: The elongated bacilli slightly increased in numbers in mononuclears. Bacillary length is about 2~3 times as long as the initial size.

Fig. 5 and Fig. 6 S. T. P. made 15 days after inoculation: The features of mononuclears, being crowded with logner bacilli, are identical with those observed in mouse leprosy.

Fig. 1

Fig. 2

Fig. 3

Fig. 4

Fig. 5

Fig. 6

Fig. 7 Reverse transfer, from guinea-pig to mouse. (I)
Viability of murine leprosy bacilli inoculated into guinea-pigs

Fig. 8 Reverse transfer, from guinea-pig to mouse (II)

少い。

2) 還元接種：還元接種を行ったマウスの局所に生じた結節の増大度を示したものが図7である。30日後にモルモットから回収された菌の発症力は他と比べれば著しく低い、5日から15日までに回収された菌は1日後に回収された菌とほぼ同程度の発症力を保持している。次に図8はこれら増大曲線をモルモットへの接種日を起点に一つの図の上にのせたものである。1、5、10日後に還元接種されたマウスでの増大曲線は殆んど重なり合っている。又15日後のそれはこれら曲線のすぐそばを走っている。

考 察

伸展標本による所見では、接種後15日目まではマウス

における鼠癩菌初期増殖所見とほぼ同じものが得られたし、還元接種でも、翌日還元接種した例とほぼ同ような結節の進展が5日、10日目に還元接種した例にみられ、15日目に還元した例も1日目のものに近かった。ことに1、5、10日後に還元接種した例の増大曲線が図8にみるように重なり合っていることから、モルモットの皮下に接種された鼠癩菌の増殖への方は、接種後15日頃までは、マウスにおけるものとほぼ同様であることがよく分るであろう。Kirchner 培地に鼠癩菌を入れ、37°Cにおき、適時マウスへの還元接種を行うと云う同様な実験方法で試験管内での菌の発症力の消長を検討したことがある。Kirchner 培地内でも菌の elongation をみることができるし、時には僅かだが菌数が増加したように思われる時もある。しかし、図9にみるように、試

Fig. 9 Viability of murine leprosy bacilli, cultured in Kirchner's medium. The leproma was ground under aseptic conditions in a mortar and gradually diluted with Kirchner's medium to obtain a 1:1000 suspension, which was centrifuged lightly. The supernatant used for the experiment.

験管内での菌の発症力は時とともに著明に減退してゆく。この所見と本実験の成績を比べてみると、約15日程度の短い期間に過ぎないが、その間にはモルモットの Macrophage が鼠癩菌の増殖に何か一役かっているように思われてならない。鼠癩菌をモルモットに移植するについては、この短い期間を幾分でも延長させることが望ましい。われわれは宿主に変調をおこさせることにより、その目的を達しようとし、Cortisone, Mitomycin C の投与を試みた。Mitomycin C 注射群に僅かの効果が認められただけで、期待したほどの効果をあげることはできなかった⁸⁾。更に検討を加えてみたい。

結 語

モルモットの背部皮下に鼠癩菌を接種し、5日目ごとに、接種部位から伸展標本を作り、菌と細胞との関係を観察するとともに、マウスへの還元接種を行って、接種された菌の発症力について調べた。

接種後5日目には単核細胞内の菌に Elongation がみられ、15日後には長い菌の充満した大きな単核細胞が接

種部位に数多くみられた。これらの所見とマウスへの還元接種成績から、モルモット皮下に接種された鼠癩菌の増殖への態度は、接種後15日頃までは、マウスにおけるそれとほぼ同じであるように思われる。しかし、これより後は菌の発症力も時とともに著しく衰え、30日後には接種部に非癩性肉芽腫もできてきて、菌数も著しく減少した。

(この論文は昭和43年度日米医学協力計画らい専門部会合同会議において報告したものである。この研究には文部省科学研究費による補助を受けた。又日米医学協力計画らい専門部会からも補助を受けた。記して謝意を表す)。

参 考 文 献

- 1) 川口陽一郎：レプラ38巻1号に掲載予定。
- 2) 川口陽一郎，広瀬芳子，高坂健二：レプラ，33，276-282 (1964)。
- 3) 川口陽一郎：昭和41年度文部省研究報告集録 (医学及び薬学)，32-33。