【風田琴次先生古稀記念論文】

K. HASHIMOTO, M.D.: SOME ASPECTS OF CEREBROSPINAL FLUID

髄液内細胞の増加機転に対する一考察

岩手医科大学耳鼻咽喉科学教室（主任 金野巖教授）

橋 本 謙 男
ハシ モト カネ オ

序 言

正常髄液中に存在する細胞は何れも単核性であり、リンパ球及び髄膜、脳室の上皮細胞、Virchow-Robin 氏腔の血管周囲間隙から出た内皮細胞であるとされておる。しかし髄膜炎の場合に増加する細胞が何所からくるかについての現在までの研究は極めて消性的である。V. Menkin は1930年、テルベンチン油注射によつて起した胸膜炎の犬の胸膜浸出液から一種のポリペプチド性物質を得て、これが注射局所への白血球の滲出を起させることから *Leukotaxine*（白血球走化因子）と命名した。しかし、安平・山本氏等は1950年、この物質が障害された組織の異常代謝産物として生成されることに着目し、正常組織を生体外で破壊して走化因子様物質を得、このものが注射局所への著しい白血球遊出を来たせるばかりでなく、全身の血管に働いて圓蓋性に白血球の滲出をもたらす力がある点から *Leukoemigratine*（白血球遊出因子）なる名称を与えた。

私は今回、髄膜炎を起した場合、髄液中にも *Leukotaxine* が生成され、更に脳脊髄及び髄膜を機械的に破壊して得た滲出液中には *Leukoemigratine* 様の物質が存在し、髄膜炎を起した場合、髄液中の細胞の増加には是等の物質が与つて力があることを実験的に証明し、一応の結果を得たのでここに報告する。

実験材料並に方法

実験材料としては総て犬を用いた。大槽穿刺により黄色葡萄球菌（209.P 株）によつて化膿性髄膜炎を起さしめた後、時間毎に髄液を採取し、遠心沈澱して上清をとり、60°C、30分で加温滅菌し、培養により無菌なることを確かめた後検査材料とした。

一方、正常成犬の脳脊髄実質並に髄膜、脾臓を摘出し、これを *Homogeniser* で破碎し、10倍量の水を加えて一昼夜氷室に放置して後遠沈し、上清をとりこれを *Leukoemigratine* の原液とした。

以上の上清を夫々別の成犬の背側皮下に確実に注射し、以後一定時間毎に局所の血管を含む皮下組織の小片を採取して伸展しノイトラール赤、ヤーヌス緑超生体染色標本を作成し、動脈・静脈・毛細管殊に細静脈周囲への白血球の浸出状況を詳細に観察した。皮下注射に当つては、注射による機械的な組織障害の結果二次的に走化因子が局所に生産されることを出来るだけ少くする意味で、可及的に細いツベルクリン反応用皮内注射針を使用した。

対称としてはリングル氏液、生塩水、正常犬の髄液を用いて同様の検査を行った。

実験成績

1) 髄膜炎髄液中の *Leukotaxine*（第1表）

実験動物として体重10kgの成犬を用いた。先ず、リングル氏液3.0ccに黄色葡萄球菌（209.P 株）10白金耳を採取し、菌浮游液を作り、大槽穿刺

第1表 *Leukotaxine* 実験成績

脳脊髄液採取の 時間（注射後）		15時間	24時間	36時間
30分	脳脊髄液	17920/3	43520/3	25600/3
	10分	+	+	+
20分	10分	+	+	+
	20分	+	+	+
40分	40分	+	+	+
	60分	+	+	+
60分	60分	+	+	+
	120分	+	+	+
120分	120分	+	+	+
	120分	+	+	+

により等量の髄液を排除した後 1.5cc の菌浮游液を注入した。

① 15 時間後の髄液 (細胞数 17920/3)

髄液約 3.0cc を採取し、遠沈後上清をとり、滅菌後 0.5cc 宛別の犬の背側皮下に注射し、時間毎に皮下組織の小片を採取、超生体染色を施して検鏡した。

10 分後にはすでに比較的細い静脈内に白血球の集合が認められ、管壁周囲にはすでに白血球の浸潤が中等度にみられ、

20 分後にはその度を増し、

40 分後には視野下至る所の血管の周囲、ことに細静脈の周囲に白血球の浸潤が現われ、血管から離れた周囲の組織中にも白血球の浸出が認められるに至り、

60 分後には、細静脈周囲への浸潤が更に増し、周囲組織への浸潤も増加するが、

120 分後には、血管周囲の状態はすでに正常に近く恢復し、周囲組織の細胞数も急激に減少する。

② 24 時間後の髄液 (細胞数 43520/3)

前回と同様の操作のもとに検鏡すると 10 分後には、細い静脈内の白血球の集合が不確定な認められるようになるが、少々細い静脈の血管周囲への白血球浸潤はまだ認められない。

20 分後には、細静脈内への白血球の集合が著明となり、周囲組織への白血球の浸潤が既に若干起つて来る。

40 分後には、細静脈周囲への浸潤が強く認められるが、15 時間後の髄液を注射した場合の同時刻に比べるとわずかに劣る様である。周囲組織への浸潤は若干認められる。

60 分後には、細静脈周囲への浸潤が更に増強し、周囲組織への浸潤も増加した。しかし 15 時間後の髄液を注射した場合の同時刻の場合よりはわずかに少い。

120 分後には、細静脈其他の血管壁の周囲は正常像に戻り、周囲組織の浸潤は名残をとめるだけとなる。

③ 36 時間後の髄液 (細胞数 2340/3)

10 分後には殆ど変化なく

20 分後には、細静脈とその管壁周囲に軽度の浸

潤が認められ、

40 分後には、細静脈周囲への細胞浸出が最大となるが、

60 分後に、細静脈の附近における浸潤は著減し、周囲組織へ散在してゐる。

120 分後には、殆んど正常像に戻る。

すなわち、人工的に化膿性髄膜炎を起した犬の髄液は、髄膜炎開始後 15 時間後の場合が、白血球の浸潤が最も強く、24 時間後の場合は浸潤開始時間が延長し、36 時間では更に延長し、かつその白血球浸潤の程度も、時がたつて減少する。従つて、髄膜炎髄液中の Leukotaxine の含有量も、炎症開始後の時間が短かい程多く含まれておるかの様にみえる。

2) 脳脊髄、髄膜 Leukoemigratine (第 2 表)

正常成犬の脳脊髄実質と髄膜と脾臓を別々に採取し、Homogeniser を用いて各組織を破壊し、各々に 10 倍量の水を加えて一昼夜氷室に放置。後遠沈して上清をとり、これを原液とした。次に Leukotaxine の場合と同様の操作により、他の犬の背側皮下に 0.5cc 宛皮下注射をして、超生体染色を施し検鏡すると、次の様な結果を得た。すなわち

第 2 表 Leukoemigratine 実験成績

注射後経過時間	脳脊髄実質	髄膜	脾臓
15分	全視野	全く変化なし	殆んど変化なし
25分	細静脈の周囲 稍太い静脈周囲 周囲組織	殆んど変化なし	10~3ヶ 2~3ヶ 1~2ヶ
60分	細静脈の周囲 稍太い静脈周囲 周囲組織	1~2ヶ細胞内 0~1ヶ 0	約 20ヶ 4~7ヶ 3~5ヶ
90分	細静脈の周囲 稍太い静脈周囲 周囲組織	1~2ヶ 0 0~1ヶ	約 10ヶ 2~4ヶ 3~4ヶ
120分	全視野	全く変化なし	名残は周囲にのみ

① 脳脊髄実質から得た原液を注射した場合には

15 分後では全く変化が認められないが、

60 分後に、ようやく割合に太い静脈の管壁の周囲に、1 視野中 0~1 ヶの白血球を認める様になり、細静脈の管腔内にも僅に 1~2 ヶの白血球を認められるに過ぎず、

100 分後には、殆んど正常に復してしまつた。こ

れに反して、

② 脳脊髄実質並に髄膜の混合物から得た原液を注射した場合には

15分後にはまだ見るべき変化を起さなかつたのであるが、25分後には、細静脈周囲に既に1視野中10~13ヶの白血球の浸潤を認め、細静脈から離れた周囲組織にも亦割合に太い血管の周囲にも浸潤が認められる様になった。

60分後には更にその度が増し、相当太い静脈周囲へも4~7ヶの白血球の浸潤を認めた。しかし、

90分後には、稍々その勢を減じ、

120分後には、更に細胞数が減少するが、なお名残りを周囲に止めていた。

脳脊髄実質だけから得た原液が、白血球の遊出を誘う力は予想以上に弱く、脳脊髄実質並に髄膜の混合物から得た原液の方が遙かに強力で、これは髄膜炎発生後15時間の髄液が白血球の浸出を来たさせる力よりも強い力をもつておることが判つた。

なお、安平・山本氏等によると、各種被検臓器に脾臓を加えて辟き pH 8.0 の緩衝液を加えておくときは、極めて強力なる作用物質を含む様になると述べておるが、私の場合はこれに加えることにより、前述の①、②何れの場合にも、その結果が更に増強される様なことは殆んど認められなかつた。

3) 黄色葡萄球菌 (209. P 株) の影響

安平・山本氏等は、炎症竈への白血球の滲出を起すものが、白血球の能動的な走化性のみによるものではなくて、より多く病電で産生された遊出因子による血管透過性昂進によるであろうと述べておるが、各種細菌が *invitro* で白血球の走化を起させることは古くから知られており、1948年、千田氏は此点について詳しい研究を発表し、更に1940年 Menkin は有毒の葡萄球菌培養液から、Leukotaxine を得たと発表しておる。之等に対する1つの裏付けとして、私は採取した髄液の1/2を滅菌し、他の1/2をそのまま遠沈して上清をとり、前回と同様の手技を用いて次の様な実験を試みた。すなわち

7.0kg の成犬を使用し、先ずリンゲル氏液 3.0cc に黄色葡萄球菌 (209. P 株) 8白金耳を採取し、大槽穿刺により等量の髄液排除後 1.0cc の菌液を静

かに注入した。注入後12時間を経てから大槽穿刺により髄液約 5.0cc を採取した。細胞数 6608/3、この髄液を2分し、一方を遠沈後上清を 80°C 30分加熱滅菌し、更に遠沈、上清をとる。他方を3000回転、30分間遠沈上清をとる。この各々の上清を別々に犬の背側皮下に注射し、以後前回と全く同様の方法で検索し、次の様な結果を得た。

細胞の浸出状態 (E. Leitz: 3×6)

(図中黒いのが浸出細胞)

① 滅菌髄液

15分後、細い静脈内の白血球の集合並に管壁周囲に1~3ヶの白血球の浸潤が認められる。

35分後、細静脈周囲に11~19ヶの白血球の浸潤が現われ、血管から離れた部分にも中等度の浸潤を来たしておる。

70分後、細静脈周囲には8ヶ前後みられるに過ぎず、周囲組織への浸潤も稍々減少して来ておる。

160分後に於ては、細静脈周囲に1~5ヶ位認められ、稍々太い静脈の周囲にはなお名残をとめておるが、周囲組織への浸潤は殆んど正常に復している。

② 非滅菌髄液

15分後、稍々太い静脈内の細胞の集合がみられるはじめるが、滅菌髄液の15分値と大差はない。

35分後、細静脈周囲には9~10ヶ、稍々太い静脈の周囲には7~11ヶの細胞浸潤を認めるが、滅菌髄液の35分値より稍々反応が弱い様である。

70分後、細静脈周囲には0~5ヶの浸潤となり、稍々細い静脈の周囲には0~10ヶを数えるが、滅菌髄液の場合よりも明かに多くなつておる。割合に太

い血管壁の周囲にも5~6ヶの白血球浸潤を認める。

160分後、細静脈周囲は6~8ヶに増し、稍々太い静脈の周囲にはなお浸潤が残つておるが、周囲組織への浸潤は減退しておる。

240分後には、ほぼ正常像に復しておる。

すなわち、15分後においては、両者の間に殆んど変化を認めなかつた。

35分後には、両者とも細静脈並にその周辺部の変化は最大となつたが、滅菌髄液の方が幾分力が強い様である。

70分後、160分後は何れも非滅菌髄液の方が強く、滅菌髄液の反応は3時間未満で殆んど消失するの、非滅菌髄液の反応は4時間を要しておる。

4) リンゲル氏液、生塩水、正常髄液注射の場合

以上のものは、対称として実施したのであるが、何れも注射後60分までは何等認むべき変化がなく、90分後幾分細静脈周囲へ白血球が浸出して来る様ではあるが、変化として特に取立てる程のことはなく、120分後の変化も亦同じである。

考按並に総括

髄膜炎の場合、髄液中に増加する細胞が何所からくるかについては、現在までまだ明かではなかつた。金野教授は髄膜穿刺の実験から、髄液内細胞と血液内の白血球を比較した結果、髄液内細胞の大部分は血行から由来すると思うが、その機転に就ては他の髄液内にある化学成分と同様に、透過性のみによつては考え難いと述べておる。

V. Menkin が炎症竈から血管透過性を昂める物質を分離し、これが注射局所への白血球の滲出を起させることから *Leukotaxine* と命名したことは前述の通りであるが、炎症の原因とその反応結果像とを結ぶ化学的因子の解明という点で、この V. Menkin の業績は注目に値するものがある。走化因子の存在に対しては、なお賛否さまだであるが、炎症竈に血管から白血球の滲出を誘う化学的物質があることは略々確定的であり、然もこの物質が障碍された組織の異常代謝産物として生成することを考えれば、正常組織又はその蛋白を分解して走化因子様物質を得ようと企てるのは当然であり、既に Menkin を始め Duthie 及び Chain 等も、血清、アルブミン、グロブリン等をトリプシン又はペプシンで分解して、その分解産物が白血球の滲出をもたらす力があることを述べておる。

安平・山本氏等は海蜃その他の動物の諸種臓器の破砕物より強力な走化因子様物を得たが、このものは注射局所への著しい白血球遊出を来らせるばかりでなく、全身の血管に働いて菌毒性に白血球の滲出をもたらす作用があり、被検遠隔部に生理的食塩水等を注射して局所の抵抗を減弱せしめておくと、この局所に走化因子を注射したのと同じ程度にまで強い白血球の滲出をもたらす作用がある点から、これを *Leukoemigratine* と呼称した。

なお、之等の物質を注射した場合、白血球が滲出して来る部分は主として細静脈であり、安平・山本氏等の海蜃臓器を用いた実験では、注射後15分で既に注射局所の細静脈が白血球で満たされ、その一部では滲出があり、30分後には大量の血管外滲出が、60分後には極大量の夥しい白血球が滲出しているのを認めると述べておる。これを見ても各種炎

症に際して細静脈の演ずる大きな役割が注目されなければならぬ。

さて、前述の実験に基いて、私は髄膜炎の際、髄液中にも他の炎症性滲出液の中に生産される *Leukotaxine* 様の物質が存在することを実験的に証明した。而して髄液中の *Leukotaxine* が白血球の滲出を起させる力は、他の炎症性滲出液の場合と同様に炎症初期に最も多く、時間の経過とともにその力を減少する。又、その力は、髄液中に浮遊する細胞数に一致せず、むしろ炎症開始後の経過時間に一致する様である。

さらに、脳脊髄実質及び髄膜を機械的に破砕して得た滲出液中に、安平・山本氏等の云う *Leukoemigratine* 様物質が存在することを実験的に証明した。しかもその *Leukoemigratine* 様物質が白血球の遊出を誘う力は、脳脊髄実質だけを破砕した場合よりも、髄膜とともに破砕した場合がより強力であり、その力は、先に述べた *Leukotaxine* 様物質の力よりも強いことがわかつた。

安平・山本氏等は、各種被検臓器に脾臓を加えて破砕し pH 8.0 の緩衝液を加えるときは、極めて強力なる作用を含む様になることを指摘しておるが、私の実験では全く影響をうけなかつた。すなわち、脾臓は脳脊髄並に髄膜に関しては、他の臓器の場合と異り反応しない様に思われる。

Metchnikoff が炎症電における白血球の役割をその貪喰性という点で説明して以来、炎症電への白血球の滲出が、細菌自体の白血球に対する走化性に依るものか、それとも二次的に産生された組織破壊物に対する走化性によるものかと考えられたのは当然であろう。私の実験はこの点を検討する一つの補助手段として試みられたものである。その結果、非滅菌髄液は滅菌髄液よりも白血球の滲出を起させる力が少々弱い様ではあるが、反応を維持する時間は長い。すなわち、髄液中に細菌が存在する場合は滅菌された場合よりも白血球の滲出状態が長時間に及

ぶ。これは起炎細菌自体が白血球の走化性に大きな影響を与えているためと考えられ、殊に白血球にある貪喰性を刺激する為であると考えられる。

結 論

私は、以上の実験に基き、髄膜炎の場合、組織が細菌の感染によつて障害される為に *Leukotaxine* 或は *Leukoemigratine* の様な物質が発生し、白血球の血管外への遊出を促し髄液内細胞の増加を来たすものと結論し、更に起炎菌とこれ等の物質との関係についても多少の検討を加え、その結果を発表した。

文 献

- 1) *Duthie, E.S. & Chain, E.*: Brit. J. exp. Path. 20: 417, 1939.
- 2) *Eppinger, H.*: Verband. deut. Ges. Kreisl. Tag. XI.: 166, 1938.
- 3) *Menkin, V.*: Dynamics of inflammation, New York, 1940.
- 4) *Menkin, V.*: Arch. Pathol. 41: 50, 376, 1946.
- 5) *Kiyono K., Sugiyama, S. & Amano, S.*: Die. Lehre von der Vitalfärbung. Kyoto.
- 6) *Zimmermann*: Bau der Kapillaren. München Berlin 1923.
- 7) 天野: 日理病会誌, 38; 15, 1949.
- 8) 南, 犬上: 日病理会誌, 30; 389, 1940.
- 9) 千田, 乾, 松下: 日血会誌, 12; 134, 1949.
- 10) 安平: 日病理会誌, 38; 183, 1949.
- 11) 安平: 日血液会誌, 12; 138, 1949.
- 12) 安平, 山本: 血液学討議会報告, 3; 160, 1950.

稿を終るに臨み、御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師金野巖教授に深甚なる感謝の意を表する。

(原稿到着=昭和31.4.2日)