

実験的膀胱アレルギーに関する研究

大阪医科大学泌尿器科学教室（主任：石神 襄次教授）

助手 福 井 一 郎

研修生 西 垣 定 雄

大阪医科大学微生物学教室（主任：山中 太木教授）

助手 堀 道 輝

EXPERIMENTAL STUDIES ON THE ALLERGIC HEMORRHAGE
IN THE TISSUE OF THE URINARY BLADDER IN RABBITS

Ichiro FUKUI and Sadao NISHIGAKI

*From the Department of Urology, Osaka Medical College**(Director : Prof. J. Ishigami, M. D.)*

Michiteru HORI

*From the Department of Bacteriology, Osaka Medical College**(Director : Prof. M. Yamanaka, M. D.)*

It was proved in rabbits that an intense hemorrhagic reaction can be produced by endotoxin in tissue of the urinary bladder by means of the "reversed Shwartzman phenomenon" first illustrated by Fujisawa in 1960, in which a description was made that intradermal injection of endotoxin can provoke a hemorrhage at the injected site of the abdominal skin of rabbits previously given intravenous injection of endotoxin.

It was found that this type of hemorrhagic reaction in the urinary bladder is easier to occur in rabbits which possess higher Shwartzman antibody titer in their sera of the general circulation.

This type of tissue reactivity seemed to be lower in grade in the urinary bladder than that of in the abdominal skin. In another wards, a larger dose of endotoxin was required to elicit this type of hemorrhage in the tissue of the urinary bladder than in the abdominal skin.

On comparative observations of this type of tissue reactivity between in the cervical and corporal areas of the urinary bladder, it appeared that the former tissue has a higher reactivity than the latter tissue to endotoxin.

Glycyrricin showed a suppressing effect on this type of tissue reaction, and its administration also protected the invasion of the organisms of Coli to the local sites of hemorrhage.

I 緒 言

1928年 Shwartzman が "Aphenomenon of local tissue reactivity" と云う論文を報告して以来、この Shwartzman 現象（以下 Sh-

現象と略）は菌体内毒素を用いて生体の反応を見るのに最も適した方法として多く研究され、特異な2回の反応手続から本現象の発現様式は、内毒素が関与すると考えられる多くの出血反応の基本的反応様式とし認識されてきた。

最近山中・藤沢はこの反応を逆の手続きによつて起すこと、すなわち先ず静脈内準備、次いで局所惹起注射することによつても同様な現象を発現することを見出し、しかもこの場合用いる内毒素量はSh.-現象の方法におけるよりもはるかに微量でかつ有効であると報告した。即ち本反応はSh.-現象に比べてより出現の容易な反応形式であるとの見解を述べている。

今回吾々もSh.-反応形式とは逆の山中・藤沢の形式に従い、実験的に家兎にアレルギー性膀胱炎を惹起せしめた。その結果、本反応の発現は処置前の Schwartzman 抗体価とかなり密接な関係を有するのではないかとの成績を得たので以下報告し若干の知見を加えたいと思う。

II 実験材料

1. 内毒素: E. Coli F. 株を生理的食塩水に 10 mg/ml の割合に浮遊せしめ、24時間、37°C に incubate した後、汙過したものを Schwartzman 汙液 (以下 Sh-汙液と略) として使用した。

2. 実験動物: 体重1.700~2.500 g のいずれも雌性健康成熟家兎を用いた。但し1部では睾丸アレルギー実験に供した後の成熟家兎を使用した。

3. S 価測定法

通常の溶血反応術式に従つたが、実験材料としては次の通りである。

a. 赤血球浮遊液

綿羊頸静脈より採血し脱纖維した血液を 2,000 R. P. M. 10 分間遠心洗滌すること3回、これを集めて原液とし、2.5%生理食塩水血球浮遊液として供試し、毎常採血直後のもののみを使用した。

b. 家兎血清

測定せんとする家兎より原則として心臓穿刺により (時に耳静脈滴下) 得た血液より清澄透明な血清を分離し、50°C 30 分間非動化して用いた。

C. 補体

少なくとも3匹以上のモルモットから心臓穿刺により採血し、血清を分離し、各血清を1管に集め永水中で洗滌綿羊血球により寒冷飽和後、直ちに遠沈し使用した。

III 実験方法及び成績

1. 出血性反応と S 価の関係

実験方法

先ず S 価測定のために採血した後、家兎に Sh- 汙液を 1cc/kg の割合で耳静脈より注射し、24時間後に家兎の下腹部を開き膀胱を露出する。その後尿道にカテーテルを挿入し約 30°C の水 20 ml を膀胱内に注入した後、膀胱の後壁中央部付近の粘膜下に Sh- 汙液を 0.1 ml 注射する。同時に腹部皮内にも 0.1 ml の注射を試みた。その後20~24時間目に再び開腹し判定した。

表 1

No. 家兎番号	被 検 家 兎	S 価	準 備	惹 起 (膀胱)	出 血 性 反 (膀胱)	惹 起 (皮内)	出 血 性 反 (皮内)
1	2 カ月前 睾丸アレルギー実験に使用	128	2.2 ml	0.1 ml	卅	0.1 ml	—
2	〃	64	2.1	〃	卅	〃	±
3	2 カ月前 皮内 Sh-R 実験に使用	32	1.8	〃	卅	〃	±
4	3 カ月前 〃	16	1.9	〃	卅	〃	+
5	正 常	16	1.9	〃	+	〃	卅
6	2 カ月前 睾丸アレルギー実験に使用	16	2.2	〃	+	〃	卅
7	3 カ月前 皮内 Sh-R 実験に使用	8	1.7	〃	+	〃	卅
8	正 常	8	2.3	〃	+	〃	卅
9	2 カ月前 睾丸アレルギー実験に使用	8	1.8	〃	+	〃	卅
10	正 常	8	2.3	〃	浮腫のみ ±	〃	+
11	正 常	4	1.0	〃	—	〃	+
12	正 常	4	2.1	〃	—	〃	+

判定方法

いずれも惹起局所の肉眼的変化により判定した。即ち
 卅, 局所は出血性に富み, かつ壊死が認められるもの。
 卅, 明らかに出血斑と浮腫をきたしたもの。
 +, 浮腫のみ, 或は点状出血のあるもの, とした。

結果

表1の如く, 膀胱においてはS価が16倍以上の高い家兎に強い反応が起る傾向があり, S価8倍では反応は軽度で, わずかに出血性及び浮腫状腫脹を呈し, それ以下のS価では全く出血性反応が認められなかつた。これに反し, 対照としておこなつた腹部皮内惹起ではNo. 1家兎を除き, 他はすべて中等度乃至軽度(卅~+)の出血性反応を示した。以上の結果から, 膀胱ではS価の高いほど反応が強くなる傾向を示したのに反し, 皮内ではS価が8倍~16倍の値で反応が強くなり, それ以下のS価でも反応が認められることが判明した。

2. 出血性反応と膀胱における惹起部位の関係。

実験方法

前記と同様の操作によりおこなつた。しかし惹起注射としては膀胱底部及び頸部粘膜下の2カ所をえらび, 出血性反応の程度を比較検討した。なお本実験ではさきの実験結果からS価16及び32倍の家兎, すなわち反応が明瞭に現われるもののみを使用した。

表 2

家兎 No.	S 価	出血性反応	
		頸 部	底 部
13	16	+	-
14	16	+	+
15	16	卅	-
16	32	卅	+
17	32	卅	-

結果

表2に示した。頸部ではすべて反応は陽性であつた。しかも5例中3例の反応は強度乃至中等度で, 粘膜下血管の拡張, また1部では壊死が認められた。しかし膀胱底部では3例が反応陰性を示し, 陽性の他の2例においても反応は極めて軽微である。

以上の結果から, 膀胱においては頸部は敏感に反応し, しかもその程度は強度であるが, 底部は鈍感で, 反応も極めて軽度であることが判明した。

3. 腹部皮内及び膀胱粘膜下惹起と内毒素量の関係
 実験方法

S価を求めた家兎5羽に前項同様静脈より準備注射し, 24時間後腹壁皮内5カ所にSh- 注射液を2, 3, 4及び5倍に稀釈しその0.1 ml を惹起注射し, 更に開腹の後, 膀胱粘膜下にも2及び3倍稀釈液を2カ所に各0.1 ml 注射した。膀胱ではいずれもその頸部に施行した。

表 3

膀胱粘膜下惹起			
家兎 No.	S 価	出血性反応	
		2 倍	3 倍
18	8	+	-
19	8	+	-
20	8	卅	-
21	16	+	±
22	16	+	-

腹壁皮内惹起

家兎 No.	S 価	出血性反応			
		2 倍	3 倍	4 倍	5 倍
18	8	+	+	±	-
19	8	+	+	+	-
20	8	卅	+	±	-
21	16	卅	+	+	-
22	16	+	+	+	-

結果

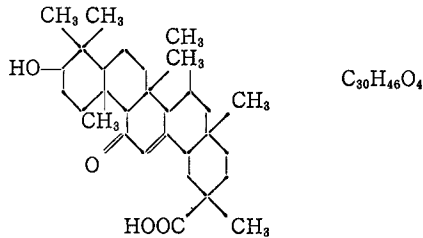
表3の如く, 膀胱においては2倍稀釈では出血性反応は陽性であるが, 3倍稀釈では反応は全く認められない。しかし腹壁皮内では, 4倍稀釈まで反応陽性を示し, 5倍稀釈で陰性を呈した。この結果, S価8及び16倍家兎膀胱における出血性反応は, 皮内出血性反応に用いる内毒素量よりもはるかに多量を必要とする傾向が認められた。

4. 出血性反応とグリチルリチン

Glycyrrhizin (以下 GL と略記する) について。

本剤の解毒作用に関しては, 1942年すでに錢内・高橋・三好によりヂフテリア毒素を使用し, その後進藤等は破傷風毒素に対しても同様に解毒作用のあることを明らかにした。更に市川らは Arthus 現象も明らかに抑制する実験結果を得ている。又最近谷口(1961)

は GL が Sh.-反応を抑制することを証明し、その意義は GL の chelating effect に基くものと考按している。GL の現在までに判明している薬理作用を大別すると解毒作用、抗炎症、抗アレルギー作用、ステロイドホルモン様作用ならびに脱コレステロール作用等があげられる。その構造式は次の如くである。



GL の上記作用を再確認する目的で以下の実験 I, II を行つた。即ち前述の実験方法で膀胱粘膜下に出血性反応陽性家兎 6 羽を 2 分し (A 群・B 群), A 群のみに GL を投与し、その後両群に F. coli 浮游液を膀胱内に注入、反応局所の状況を比較観察した。更に GL による本反応抑制効果についても検索した。

実験 I

実験方法

A 群 No. 2, No. 4, No. 6 家兎。

B 群 No. 3, No. 5, No. 7 家兎。

膀胱粘膜下に出血性反応判定後、A 群には 1 回 2ml づつ 8 時間毎 3 回皮下に GL を注射、B 群は同様の方法で生食 2ml を注射し、24 時間目に Coli 10mg/ml 浮游液をカテーテルにより膀胱内に 20ml 注入し、そのまま 1 時間放置しカテーテルを抜去する。その後 48 時間目に開腹し再び膀胱内に生食を注入して膀胱部を充満させ、A 群、B 群共に出血反応陽性の部分の粘膜を 1 部切除した。その組織切片を生食でよく洗滌した後、アガールプレートにより大腸菌の培養を試みた。

結果

A 群では反応局所粘膜下部に大腸菌は検出されない。これに反して B 群のうち 2 例は反応局所に大腸菌が吸着され、その部位の肉眼的所見は一般に肥厚性で、周囲血管は拡張する傾向が認められた。A 群では反応局所の肥厚は認められない。

実験 II

実験方法

3 羽の家兎を使用し、型の如く静脈内準備注射施行後、皮下に GL を 6 時間毎 2cc づつ注射し、準備注射後 24 時間目に局所惹起注射を実施した。GL 注射は

判定時迄継続し計 8ml, 160mg に及んだ。

表 4

家兎 No.	S 価	出血性反応	
		膀胱	皮内
23	8	—	—
24	16	—	+
25	16	—	—

結果

結果は表 4 に示す如くで、膀胱では出血反応はすべて陰性で、腹部皮内では 1 羽のみ陽性成績を得た。即ち GL は明らかに解毒及び抗アレルギー作用を有することが判明した。

IV 総括及び考按

臨床的にアレルギー性膀胱炎が存在することはいまや疑うべくもない事実である。他方、動物実験において膀胱アレルギーを取扱った業績では、Manwaring (1924), 赤枝 (1935), Siess (1950), 中野 (1955) などがあり、また高安ら (1955) は Sh.-反応形式により出血性膀胱炎を起すことに成功している。

我々は前述の如く山中・藤沢の反応形式、即ち静脈内準備一局所惹起という Sh.-現象発現とは逆の手續により、実験的に家兎のアレルギー性膀胱炎を惹起せしめ得た。

高安らの Sh.-現象としての出血性膀胱炎では、準備注射として Sh.-浮游液を膀胱筋層内に注射し、次いで静脈内惹起注射により著明な出血を認めたが、準備として膀胱粘膜下に注射した場合は出血は認められなかつたと報告し、このことは出血性膀胱炎の成立機転として膀胱壁そのものの関与が意味あるのではないかとの見解を述べている。

我々の実験では、局所惹起注射はすべて膀胱粘膜下におこなつた。その結果出血性反応陽性及び陰性家兎を認めた。一般に反応の発現は S 価高値のものに強く、低値のものでは弱いか或は陰性を示す傾向がある。即ち S 価 128 倍では反応は最も強度 (卅) で、64~16 倍では中等度 (卅), 8 倍では軽度 (+), 4 倍のものでは反応陰性を示した。このことは本様式による膀胱

膀胱の出血性反応は、S価とかなり密接な関係にあるのではないかと推測される。

従来のSh.-様式による家兎の膀胱出血反応とS価との関係については明らかでない。また上述の如く高安らの実験で膀胱筋層内及び粘膜下準備の場合、前者にのみ出血性反応が陽性を示した理由としては、両者の組織構造自体の反応性の相異は勿論、粘膜下準備注射では抗原を局所に限局化することが不確実になるのではないかと云うことも憶測される。

我々の試みた反応様式は、まず最初の静脈内準備注射により流血中に一定量の内毒素を入れ、一定時間何らかの形で全身性に組織反応性の変化を成立せしめておき、更に局所に内毒素を注射することによりその局所に出血性反応をおこし得たのである。この場合、処置前の自然抗体価が高いことは膀胱組織においても組織反応性がかかなり強いと見做してよく、この状態え更に流血中に準備注射することは個体に対して全身性の組織反応を一層たかめることになる。とすれば局所惹起注射は極めて容易にかつ自然にその局所反応を出現せしめるものと考えられる。

山中・藤沢によれば本手続により出現する局所反応の時間的経過及び反応局所の病理組織学的所見はSh.-現象の際のそれと極めて類似のものであると云われる。しかもこの場合用いる内毒素量はSh.-現象の方法におけるよりもはるかに微量でかつ有効であると云う事実も強調されている。ただし本様式による組織反応についての重要な問題は、最初の処置による内毒素の流血中への侵入によつて個体に成立する組織反応性の変化が如何なる成因によるものかと云う疑問である。その解釈は難かしく、山中・藤沢によつても未だ明確な解答はおこなわれていない。とまれ本反応形式は、その反応発現がSh.-現象に比してより容易な点から、多くの臨床的な出血性病変の発現機序に対して再検討の意義をもつものであり、これらの説明は今後の研究発展にまつべきものが大きい。

次に膀胱における反応部位として底部及び頸部粘膜下の2ヶ所を選び、両者の出血性反応の

状態を比較検討した。その結果、後者は極めて敏感に反応し、かつ出血性反応の程度も強度であることが判明した。その理由では両者の組織構造及び神経支配の相異は勿論、機能的作用の面をも考慮する必要があると考えられる。周知の如く排尿、蓄尿機構において膀胱頸部の占める役割は極めて大である。また臨床例において膀胱頸部に他覚的炎症所見が限局する所謂膀胱頸部炎はかなり多く、とくに婦人の場合は化学療法によつても消滅しない難治性慢性炎症の経過をとる例も屢々経験する。その病因を内分泌、自律神経系の不均衡に求める学者もないではなく、別な観点からすれば自律神経不安状態では甚だ弱い無意義と考えられる感作が意義を持つ様になり、このため微量の抗原との局所的接触によつてもその局所に特殊なアレルギー炎症を示すことがあり得ると考えてよい。我々の実験結果から、臨床上的膀胱頸部炎の成因の1部にアレルギーが関与する場合も当然考慮して差支えないのではなからうか。

腹部皮内と膀胱粘膜下惹起における内毒素量の関係では、前者は2倍稀釈液で出血性反応陽性を示すが、3倍稀釈では反応は認められない。これに対し腹部皮内では4倍稀釈まで反応陽性で、5倍稀釈に至り陰性を呈した。しかし使用した家兎はすべてS価8及び16倍のもので、既述の実験成績(表1参照)の如くS価高値の場合この関係が如何なる変化を示すかは明らかでない。

膀胱における本出血性反応を惹起した後、局所にE. coli浮游液を作用せしめ、GL投与及び非投与家兎の反応局所の変化を比較観察した。その結果GL投与群では反応局所粘膜下に大腸菌は検出不能であつたが、非投与群では局所に大腸菌が吸着され、肉眼的に明らかな2次的炎症の所見が観察された。即ちGLは大腸菌の組織侵入を防止する効果を示すことが判明した。

山中・勝呂はSh.-型組織反応の発現機序に関する研究において、準備感作局所はその後静脈内に注入された生菌を他の無処置対照局所に比して著るしく多数に吸着している事実を証明

し、これを仮りに Bioattraction Effect と呼んだ。そして Sh.- 反応は Sh. 抗原による感作局所の Bioattraction Effect によつて局所に集積濃化された自然抗体との間における抗原抗体反応の所作であらうとの推論をおこなつている。

我々の実験は通常の所謂 Sh.- 反応とは全く逆の形式による組織反応であり、従つてかかる Bioattraction Effect 或はこれに類する現象が存在するかどうかは疑問であるが、GL はかかる現象を阻止する薬剤と考えられる。また本組織反応において、静脈内準備注射後 GL を投与した実験では、膀胱粘膜下局所惹起注射によつても反応は出現せず、腹部皮内においても3例中1例のみ軽度出血反応を呈したのみで反応は明らかに抑制される結果を得た、このことはGLの有する解毒及び抗アレルギー作用を裏づける事実としていささか興味深い。

V 結 語

1) Sh.- 現象とは逆の山中・藤沢の反応形式、即ち静脈内準備一局所惹起注射により実験的に家兎膀胱の出血性組織反応を惹起せしめた。

2) 本反応とS価との関係を検討した結果、膀胱ではS価高値のものに出血性反応が強く現われる傾向が認められた。

3) 本反応に対する膀胱の感受性は腹部皮内より弱い 即ち膀胱は反応惹起において腹部皮

内のそれよりも多量の内毒素を要した。

4) 同様の反応手続きにより膀胱頸部と体部の出血性反応の状態を比較検討した結果、前者は極めて敏感に反応し、かつその程度も強度であつた。

5) GL は膀胱における本出血性組織反応を抑制し、また反応局所に対する大腸菌の侵入を阻止する効果を示した。

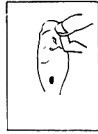
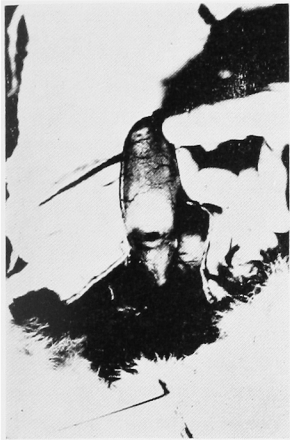
この論文の一部は第16回日本泌尿器科学会関西地方会において発表した。

(終始御指導並びに御校閲を賜つた石神教授並びに山中太木教授に対して深甚なる感謝の意を捧げます)

文 献

- 1) Shwartzman, G. : Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 25 : 560, 1928.
- 2) Shwartzman, G. : Phenomenon of Local Tissue Reactivity, New York, Paul B. Hoeber, Inc., 1937.
- 3) 藤沢通明：仁泉医学，10：108.
- 4) 三好英夫：日新医学，39：7，1952.
- 5) 進藤宙二他：アレルギー，2：332，1952.
- 6) 市川収他：他 医学と生物学，14：268，1949.
- 7) 堂野前維摩郷他：日本臨床，19：2176，1949.
- 8) 赤枝守一：岡山医学会誌，47：2809，1961.
- 9) 中野富夫：泌尿紀要，1：110，1955.
- 10) 高安久雄他：最新医学，10：1195，1955.
- 11) 勝呂隆彦：仁泉医学，7：1，1956.

(1964年6月9日受付)



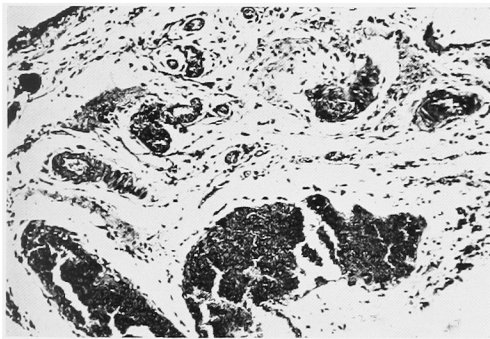
第1図

No. 3 家兎 (表1) 出血性反応, 判定 (+)
膀胱粘膜下出血斑を認め, かつ浮腫状を呈す.



第2図

No. 16 家兎 (表2) 出血性反応, 頸部 (卄),
底部 (+),
○頸部は, 出血が強く一部壊死が認められる.
○底部では, 軽度の浮腫と点状出血を認めるのみ.



第3図

No. 3 家兎 (表1), HE 染色×200: 左上
部に粘膜が認められるが, その右下方にて粘
膜下出血の小巣があり, 又小静脈の拡張と赤
血球充盈が強い.



第4図

No. 9 家兎 (表1), HE 染色×200: 粘膜
はおおむね正常であるが, 粘膜下の浮腫が強
く認められる.