

314、昭23

7、染谷四郎：日本臨床、2：516～522、昭19

8、千葉、所澤：結核、22：147～161、昭19

9、吉岡博人他：醫學と生物學、9：334～336、昭21

10、染谷四郎他：公衆衛生學雜誌、2：8～18、昭22

11、川村達：公衆衛生學雜誌、4：10～17、昭23

12、川村達他：民族衛生學會發表：昭23年5月、近く公衆衛生學雜誌に掲載

## 抗酸性菌の集落形態に関する研究

九州大學醫學部細菌學教室(主任 戸田忠雄教授)

九州大學醫學部第一内科教室(主任 操 坦道教授)

大學院學生 阿 武 壽 人

(本論文の要旨は昭和23年1月福岡醫學會第377回例會において発表した。)

抗酸性菌の集落形態に重點をおいた研究は甚だ少いので次の2通りの實驗を行つた。

### I 岡片倉培地上の集落形態

抗酸性菌は菌體が密集する傾向が強く分離培養の當初及び集落解離を試みる時以外に單獨集落をみる事は稀れで長崎、市原<sup>(1)</sup>、豊野<sup>(2)</sup>等の發表あるのみである。私は現在廣く使われている岡片倉培地に稀釋培養を行い單獨集落の性狀特にその形態を比較研究した。

#### 實驗方法

非病原性菌は1～2週間、病原性菌は3～4週間培養したものを2mmの白金耳で1白金耳量とり乳鉢にいれ生理的食鹽水を滴下しながらすりつぶす。2重にした定量分析用濾紙を小漏斗に装着し試験管口にのせて濾過すると一見水様澄明な菌液が得られる。食鹽水の量は適當數の孤立性集落が得られる様に菌株により加減を要する。この菌液を2mmの白金耳に1白金耳量とり岡片倉斜面培地にぬりパラフィンで封じ37°C 孵卵器にいれ非病原性菌は3～5週間、病原性菌は8週間位培養する。

#### 實驗成績

1 非病原性菌、蛙ジケイ、長崎95、106XX、920、923B、内田D、人非5、Mb 肋膜、尿S、石川、人非32、口腔Ⅲ、松本、木戸、S15、S12、S50B、チモテイ、牛腺Ⅱ、スメグマI、B101A、B102、Z1B、72Aの24株を用いた。由來色

調等は後出の表を参照されたい。集落形態は同一菌株でも發育につれ非常に變化する事が多いが發育の限度に迄達したものは次にのべる11種類に分れた。初期集落はR型では不正圓形粗糙乾燥無光澤、Im型S型では圓形露滴狀平滑濕潤光澤があるがIm型のものはその後構造が複雑となり光澤も減少する。

R1型 中央部は紐を無秩序に丸めた様な形を呈し周圍に邊縁不整、放射狀に走る多數の小皺をもつ裾野狀の部分がある。蛙ジケイ、長崎95、人非5、木戸白、尿S、チモテイR、牛腺ⅡRの諸株がこれに屬し直徑10mm位の大ききとなる。(以後この2項目は括弧内に略記)

R2型 始めはR4型同様であるが後には中央部はほぼ平坦な臺地狀となり周圍に網狀乃至樹枝狀構造を呈する裾野をめぐらす様になる。邊縁には不規則な鋸齒狀の出入がある。(106XX、Mb 肋膜株、10mm位。)

R3型 數個の豆狀隆起が低い同心圓性に走る輪環狀の凹みのある裾野の中央に存在する。邊縁は大體圓形であるが多少は不整な出入がある。(S12株、6mm位。)

R4型 中心部は陥凹周圍は火口壁狀にもりあがり、これを上からみれば彎曲した環狀の堤防の様に見える。(内田D株、2～3mm)

Im1型 平坦な圓形臺地の周圍に少數の放射狀の皺のある裾野ができる。臺地と裾野との境界は明瞭で邊縁には數個の陥入があり菊花狀を呈す

る。(チモテイ Im 株、10mm 位。)

Im 2 型 お椀を倒さにした様な部分の周囲にこれと明瞭に境せられた微細な放射状の皺をもつ裾野ができる。邊緣は不規則に出入。(S 50B、口腔ⅢIm、チモテイ Im 株、8mm 位。)

Im 3 型 表面に小顆粒状の凹凸があり金米糖状を呈する。(923、石川白、B 101 A、木戸黄株、1~3mm 位。)

S 1 型 傾斜の緩かな低い富士山型でこれに輪環状の線状陥凹凸及びこれと直交する放射状の陥凹が少数生ずる。(スメグマ I、牛腺Ⅱ S 株、8mm 位。)

S 2 型 大體圓板状であるが邊緣がちりめん皺状にまくれあがり花模様のようになる。(B102株、4~5mm。)

S 3 型 正圓形で平たいが周邊がもちあがり赤血球状のもの或は更にその中心部が周囲と同じ高さ迄丸く隆起するものがある。(Z 1 B 株、4~5mm。)

S 4 型 大きさを増すだけで何時迄も半球状の形態を失わない。これに 2 通りあり人非 32、松本、石川黄株は直径 1~2mm を越えず、72 A、923 B、口腔ⅢS、チモテイ S 株は 10mm 位となる。

集落解離 6 株に解離が起つた。木戸、石川、S 50B 株は元來橙色株であるがこれから白色株が解離し、牛腺Ⅱ、口腔Ⅲ株は S 型株であるが前者からは R、後者からは Im 株が解離し、チモテイ株は始め Im 株でこれから同時に R と S 型が解離してきた。解離株の一部を鉤菌し新培地に植え集合集落を作つたが皆解離當初の性状を持続したので後に全血液内培養に供した外それ以上の繼代は行わなかつた。

2 人型結核菌 F 株、青山 B 株を用いた。始めは不正圓形粗糙乾燥して集落を作るがその後金米糖状となるもの或はその中心部が特に隆起するもの及び低い富士山型となるもの 3 通りを生じた。2 個月で漸く 2~4mm の大きさとなる。兩菌株の間に差はない。

3 牛型結核菌 牛三輪、牛 B 15 株を用いた。集落性状も發育速度も人型菌と全く同様で兩株の間にも差はない。

4 鳥型結核菌 A 62、A 71 株を用いた。どちらも正圓形平滑潤光澤ある露滴状の S 型集落を作る。肉眼的に集落を認めるのは人牛型菌より早いが大きさは 2 個月で 1~2mm に止まる。

### 總括と考察

集落の分け方は種々あるがここでは母集落たる集合集落の性状も考慮に入れて R、Im、S に大別これを更に形の違から細別した。集落は生長する間に大きさという量的變化だけでなく形の質的變化も伴うことが多いから生長の限度に達し集落が完成される迄觀察する必要がある。尙單獨集落を作ると集合集落では明かでない各菌株の個性がはつきり表われる。次に非病原性菌は一般に解離しやすいのであるが單なる稀釋培養によつて 24 株中 6 株に解離が起つた。累代中に S→R 或は R→S の變化が特發的に起る事もあるからこの性状は一定不變ではない。長崎等は非病原性菌の集落を 10 群に分けているが私の場合と異なるものが相當あり非病原性菌の種類の豊富な事を思わせる。

### 結 論

1 岡片倉培地に非病原性抗酸性菌 24 株を稀釋培養した所 11 種類の單獨集落を生じた。

2 人型菌牛型菌各 2 株は同様の R 型單獨集落を生じ兩者の間に差はみられない。鳥型菌 2 株は典型的の S 型單獨集落を生じた。

3 單獨集落においては集合集落の場合にはわからない各菌株の個性が明瞭に表われる。

### II 全血液内の小集落形態

種々の物質の結核菌發育阻止力をみる目的で slide cell culture (SCC) を行つている際に人型菌が獨得の小集落形態を呈するので他の抗酸性菌の SCC を行つてみた所同時に脱水素作用の強弱を知り得る事がわかりこれが菌型或は菌株の鑑別に役立ちはせぬかと思ひ次の實驗を行つた。

### 實驗方法

岡片倉培地上の菌苔から菌液を作り健康成人血液と混じて培養する。SCC の手技は大體教室の慣用法<sup>(3)</sup>に従つたから詳細は省略するが、只菌株により食鹽水の量を加減しなければならぬ。血液は

のせ硝子の間で直徑約 1.5cm の圓板狀に擴がる位がよい。24時間ごとに孵卵器からとりだし血液膜の色調の變化をみ、病原性菌は 3、5、7、10 及び 13 日後に非病原性菌は 1、2、3、5 及び 8 日後に夫々 1 枚宛染色檢鏡する。

### 實驗成績

1 非病原性菌 44株をしらべたがその名稱由来は後出の表に示す。

a) 脱水素作用 培養中に血液膜の一部或は全部が紫色に變化するがこれは分光鏡検査により脱水素酵素の作用で還元血球素ができるためである事がわかつた。最も強いのは人非 5 株で 12 時間位で全體が紫變、最も弱いのは 1B 株で 24 時間後には半分以上紫變するが 3 日目位から逆に縮少し 5 日以後は紫色部の直徑が 4mm 位になる。この 2 株の間を更に強中弱に分けてみた。

b) 染色所見 44株中 3 株の例外を除き他は皆栗の毬型の小集落を作つた。發育初期の菌數の少い時は形が明瞭でないが 100 個位に増殖した時を觀察すると毬型を更に次の 3 群に分け得る。

i) 毬の突起が大きく長くしかもその長さが不揃であるもの。

ii) 突起が稍短く後にのべる鳥型菌の小集落同様のもの。

iii) 突起が痕跡様となり葡萄球菌の塗抹標本の様にみえるもの。

例外は 106XX、石川白、920 株で始めの 2 株は紐型の小集落を作り後述の人牛型菌に似ているが紐の幅が一般に廣く且つ不揃であるのと個々の菌體の配列方向がまちまちである點が異なつている。920 株は始めは獨得のすんぐりした紡錘型の小集落を作るが後には普通の毬型に移行する。

菌體の長さは分裂初期の幼若な中は長く成熟すると次第に短くなるのが通例であるが成熟時に 5 $\mu$  位のを長、0.5 $\mu$  位の球桿菌様となるものを短、その中間を中と表わした。抗酸酒精性も幼若な中は弱く成熟後強くなるのが通例であるが Ziehl-Neelsen 法で濃赤染するものを強、大部分が青染するものを弱その中間を中とした。以上の成績を一括したのが別表であるが脱水素作用は大部分の菌株が病原性菌より強い。岡片倉培地上の性状

と關聯ありとみられるのは、白色群に屬するものは皆抗酸酒精性が強く、菌體の短いものは皆着色群中にある事實である。小集落形態は菌體の長短と關係があり同じ毬型でも菌體の長いものが i となり短いものが iii となる。

同一菌株よりでた S 型と R 型或は Im 型を比較したのは 4 株にすぎないが、小集落形態は R 型の方が突起が長い傾向はあるが本質的な差ではない。脱水素作用は S 型の方が稍強いがその差は僅少である。抗酸酒精性は R 型の方が一般に稍強い。黄色株から白色株を解離した木戸、石川の兩株の中石川株では黄色株と白色株とで小集落形態が本質的に異なつてゐるが、これは一旦解離した黄色株を更に稀釋培養しても、もう白色株が出てこないから途中で混入したものと考えたい。

2 人型結核菌 F、保利、青山 B、16R の 4 株で皆 R 型である。F 株は特に岡片倉培養のものと同様のものと比較してみたが全く同様の結果を得た。

a) 脱水素作用 16R 株は培養後 12 時間、F 株保利株では 24 時間後に血液膜の中央部が紫變してくる。その後紫色部が次第に大きくなり、16R 株では 2~4 日後に全體の  $\frac{2}{3}$  以上を占めるに至りその後多少縮少するが、F 株保利株では 3~4 日を頂點として縮少し始め 6 日以後には紫色部が再び消失する。青山 B 株はその中間の強さである。毒力は保利、F、青山 B、16R の順に強いから脱水素作用は毒力と反比例している様にみえる。

b) 染色所見 十數個の菌體が束となりたてに長くつながつて紐がまがりくねつた様な小集落を作る。中には一見毬型を呈するものもあるが注意してみると周圍に紐狀の突起をだす傾向が認められる。非病原性菌の紐型と違ふ所は紐の幅が狭く且一定している事及び菌體が紐の長軸方向に一致して美事に並列している事である。菌の長さは始め 4~7 $\mu$  後に 1~3 $\mu$  となる。始めは淡赤色均等に染まるが後には濃赤色の顆粒が出現する。以上の所見は 4 株に共通である。

3 牛型結核菌 牛 III、牛三輪、牛 RM、牛 B 15 及び B.C.G の 5 株を用いた。皆 R 型である。

a) 脱水素作用 5 株共人型青山 B 株と同様の

非病原性抗酸性菌の諸性状一覽表

| 名 稱     | 由 來                | 岡 片 倉 培 地 |     | 全 血 液 内 培 養 所 見 |       |       |       |
|---------|--------------------|-----------|-----|-----------------|-------|-------|-------|
|         |                    | 色 調       | 集 落 | 小集落形態           | 菌體の長短 | 抗酸酒精性 | 脱水素作用 |
| 蛙ヅケイ    | 蛙                  | 白         | R   | 毬 i             | 中     | 強     | 中     |
| 長崎 95R  | 同 <sup>S</sup> 株より | 白         | R   | 毬 i             | 長     | 強     | 強     |
| HR12B   | 不明                 | 微黄白       | R   | 毬i~ii           | 中     | 強     | 強     |
| 人非 5    | 人體                 | 白         | R   | 毬 i             | 長     | 強     | 最強    |
| S 15    | 下水                 | 白         | R   | 毬 i             | 中     | 強     | 強     |
| 木戸白     | 同黄株より              | 白         | R   | 毬 i             | 長     | 強     | 弱     |
| S 2     | 下水                 | 微黄白       | Im  | 毬 i             | 長     | 強     | 強     |
| S 12    | 下水                 | 微黄白       | Im  | 毬 i             | 中     | 強     | 強     |
| 106XX   | 鼠糞糸                | 白         | Im  | 紐               | 中     | 強     | 弱     |
| 石川白     | 同黄株より              | 白         | Im  | 紐               | 中     | 強     | 弱     |
| 920     | 鼠糞糸                | 白         | S   | 紡 錘             | 中     | 強     | 強     |
| 長崎 95 S | 鼠糞糸                | 白         | S   | 毬 i             | 長     | 強     | 強     |
| 人非 33   | 人體                 | 白         | S   | 毬 ii            | 中     | 強     | 中     |
| スメグマ I  | 恥 垢                | 帶黄白       | Im  | 毬 i             | 長     | 強     | 強     |
| H 麥     | 麥                  | 帶黄白       | Im  | 毬iii            | 短     | 弱     | 中     |
| S 50 B  | 下水                 | 帶橙白       | S   | 毬i~ii           | 長     | 弱     | 強     |
| スメグマ    | 恥 垢                | 白→<br>煉瓦紅 | R   | 毬 i             | 長     | 弱     | 強     |
| 923 B   | 鼠糞糸                | 白→橙       | S   | 毬 i             | 中     | 中     | 強     |
| Z 1 B   | 不明                 | 黄白→橙      | S   | 毬i~ii           | 中     | 弱     | 強     |
| B 109   | 土 壤                | 黄白→橙      | S   | 毬iii            | 短     | 弱     | 強     |
| チモテイ R  | 牧 草                | 橙         | R   | 毬 i             | 長     | 中     | 強     |
| 牛腺 I R  | 同 <sup>S</sup> 株より | 橙         | R   | 毬i~ii           | 中     | 中     | 強     |
| 内田 D    | 鼠糞糸                | 鮮 橙       | R   | 毬 i             | 中     | 中     | 弱     |
| Mb 肋膜   | 人體                 | 橙         | R   | 毬 i             | 中     | 強     | 強     |
| 214 P   | 不明                 | 橙         | R   | 毬 i             | 長     | 中     | 強     |
| V       | 不明                 | 橙         | R   | 毬i~ii           | 中     | 弱     | 強     |
| 尿 S     | 人體                 | 橙         | R   | 毬 i             | 中     | 中     | 中     |
| 鳥 IV    | 鶏                  | 橙         | R   | 毬i~ii           | 長     | 弱     | 強     |
| 鳥 VI    | 鶏                  | 橙         | R   | 毬i~ii           | 中     | 弱     | 強     |
| 石川黄     | 人 痰                | 橙         | Im  | 毬 ii            | 中     | 強     | 弱     |

|   |         |       |    |    |          |   |   |    |
|---|---------|-------|----|----|----------|---|---|----|
| C | 木戸黄     | 人類糸   | 橙  | Im | 毬 ii     | 中 | 強 | 弱  |
|   | 口腔Ⅲ Im  | 同S株より | 橙  | Im | 毬 ii~iii | 中 | 中 | 強  |
|   | 牛腺Ⅰ S   | 牛     | 橙  | S  | 毬 i      | 中 | 弱 | 強  |
|   | チモテイ S  | 同R株より | 橙  | S  | 毬 i~ii   | 中 | 中 | 強  |
|   | 人非 32   | 人體    | 橙  | S  | 毬 i      | 長 | 強 | 弱  |
|   | S 20    | 下水    | 橙  | S  | 毬 ii     | 短 | 弱 | 強  |
|   | 口腔Ⅲ S   | 人體    | 橙  | S  | 毬 iii    | 短 | 弱 | 強  |
|   | 松本      | 人體    | 橙  | S  | 毬 iii    | 短 | 強 | 中  |
|   | スメグマ I  | 恥垢    | 鮮橙 | S  | 毬 iii    | 短 | 強 | 強  |
|   | I B     | 不明    | 黄橙 | S  | 毬 iii    | 短 | 強 | 微弱 |
|   | B 101 A | 土壤    | 黄橙 | S  | 毬 iii    | 短 | 強 | 強  |
|   | B 102 A | 土壤    | 鮮黄 | S  | 毬 iii    | 短 | 強 | 中  |
|   | 72 A    | 不明    | 黄橙 | S  | 毬 iii    | 短 | 強 | 強  |
|   | 鳥 V     | 鶏     | 橙  | S  | 毬 iii    | 短 | 弱 | 強  |

強さを示す。

b) 染色所見 人型菌同様の小集落を作るが只菌體個々の配列が人型菌程紐の長軸方向に規則正しく一致していない様にみえるが、これだけで人型菌と鑑別する事は困難である。長さ染色性は5株共人型菌と同様。

4 鳥型結核菌 A62、A71、鳥 71 號、鳥獸調、鳥京の5株を用いた。皆S型で始めの3株が白色、他の2株は人牛型菌程度の微黄白色を呈している。A62株はグリセリン寒天に移すと2~3代でR型に變異し再びS型にもどりにくい事を知つたので、A62株だけはR、S兩株を比較してみた。

a) 脱水素作用 菌株により僅かの差はあるが、皆24時間後に半分位迄紫變し3日目位迄その状態を續けるが再び縮少し始め6~7日目には紫色部が消失してしまう。結局5株共牛型菌よりは弱く、人型菌の保利、F株よりは強いが青山B16R株よりは弱い。

b) 染色所見 哺乳動物結核菌即ち、人牛型菌とは全く異なり紐型の小集落は全然みあたらず皆粟の毬型を呈し非病原性菌の毬 ii 型に大體一致している。長さは始め3~5μ 後には1~2μ 位となる。赤染の度は人牛型にくらべ稍弱い。以上の

所見は5株(A62R株を含む)は共通である。

#### 總括と考察

SCC の際に人牛型菌はいずれも紐型のほぼ同様の小集落を作るに對し、鳥型菌は毬型の小集落を作り決して紐型を呈する事はない。非病原性菌は少數の例外を除き他は皆毬型の小集落を作り鳥型菌と一寸區別し難いものもあるが發育の遲速、脱水素作用や抗酸酒精性の強弱等を参照すれば SCC 所見だけでも區別する事ができる。例外として紐型の小集落を作るものもあるが既述の點を注意すれば混同する恐れはない。脱水素作用は非病原性菌にくらべると病原性菌は一般に弱いが3型の中では牛型菌が比較的強く鳥型菌が比較的弱く人型菌は菌株によりまちまちであつた。Ninni & Bretey<sup>(4)</sup> は既にクエン酸曹達を加えた血液に各種結核菌の乳劑をいれ試験管内で培養した後塗抹標本を作り染色檢鏡すると哺乳動物結核菌はバンド或はリボン狀の菌塊を作り鳥型菌は buisson 狀の菌塊を作る。人型と牛型とは形は同じだが牛型の方が發育が貧弱であるから區別できると稱しているが、非病原性菌及び脱水素作用にはふれていない。私の場合牛型菌も人型菌同様によく發育したのは菌株の相違か或は私の使つた菌株が分離

後長らく累代され人型菌同様の旺盛な發育をする様になつていたためであろう。抗酸性菌の分裂形式或は發育環を研究した者は多いがその時できる小集落形態に言及した者は少い。Wyckoff<sup>(5)</sup>、占部<sup>(6)</sup>は非病原性菌のR株とS株との差をのべ植田<sup>(7)</sup>は主として液體培地上の初期菌膜構造をのべている。非病原性菌の分類は幾多の先人<sup>(8)</sup>により試みられており分類のより所も色々であるが小集落形態に論及した者はない。然し乍ら高崎95、106XX 920株の3株は集合集落では區別できないがSCCを行えば全く別種の小集落を形成して全く異なつた菌株である事が明かとなる。勿論これだけで分類を企てる事は不可能であるが小集落形態はR、Sの變化により殆んど影響をうけないので病原性菌と非病原性菌と、或は哺乳動物型と鳥型と場合によつては非病原性菌相互の鑑別に有効な参考所見といえよう。更に想像を進めれば非病原性菌中小集落が毬型のものは鳥型菌に、紐型のものは哺乳動物結核菌に夫々より近い類縁関係にあるものではないかと思われる。

### 結 論

1 SCCの際哺乳動物結核菌は紐型の、鳥型結核菌は毬型の小集落を形成するが人型菌と牛型菌

との間には顯著な差はない。

2 非病原性抗酸性菌は少數の例外を除き鳥型菌と同種類に屬する毬型の小集落を形成するが、鳥型菌とは發育の遲速、抗酸酒精性、脫水素作用等の相違で區別する事ができる。

3 SCCは各種抗酸性菌の小集落形態、菌體の長短、抗酸酒精性、脫水素作用の強弱等を同時に觀察でき抗酸性菌の一補助鑑別法である。

稿を終るにあたり御懇篤な御指導御校閲を賜つた恩師戸田忠雄教授並びに御鞭撻を賜つた恩師操坦道教授に感謝の誠をささげる。

### 文 献

- 1) 長崎たき、市原鶴雄: レブラ、5: 531、昭9
- 2) 農野昇菘: 結核、17: 746、昭14
- 3) 戸田忠雄: 結核菌とB.C.G、144頁、昭19、南山堂
- 4) Ninni, C. & Bretey, J.: Compt. rend. Soc. de. biol., 113: 572, 1933.
- 5) Wyckoff, R.: Amer. Rev. Tuberc. 29: 389, 1934.
- 6) 占部 薫: 福岡醫科大學雜誌、29: 2893, 昭11.
- 7) 植田三郎: 日本醫學、2423號: 176, 昭23.
- 8) 戸田忠雄: 結核菌とB.C.G、344頁、昭19、南山堂

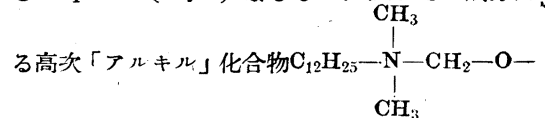
## 逆性石鹼竝に高次「アルキル」化合物の結核菌に及ぼす影響に就いて (結核の化學療法に關する基礎實驗)

細 沼 榮 一

### 第一章 緒 言

結核の化學療法に關しては、Robert Kochの「シアン」化金以來實に枚擧に遑の無い程の研究がある。然しながら結核菌に對し、充分強力なる發育阻止作用を有する物質の未だ發見せられざること、病竈にこれを強力に作用せしむる方法の不備のために、未だ何等見るべき成果を擧げていない現状である。著者は種々の點から結核菌に對する油脂、脂肪酸の作用に興味を持ち研究する中に油脂中最も結核菌の發育を阻止する作用の強い、椰

子油から作られる逆性石鹼(Invertseife)の一種たる Zephinol (Bayer) なるもの、及びその成分た



$\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$  について、結核菌に對する影響について實驗を行つたので、その成績についてここに報告する。

それに先だつて、逆性石鹼なるものを概説すると普通石鹼は、その「アルキル」基が陰「イオン」