
 總 說

結核菌の形態及び發育様式の闡明

京 都 大 學 教 授 植 田 三 郎
結 核 研 究 所 所 員

緒 言

1. 多形態性の主張と其の根據

極めて多數の既往の業績を讀んで直ちに氣付く事は、結核菌の形態に關する所見なり、それに立脚する發育様式の解釋なりが餘りにも區々であつて、何れに就き何れをとるべきかに迷う事である。而も是等の區々な所見、見解はそれを綜合判斷する事さえ困難であつて、その結果は我々は結核菌を多形態性を示すところの特殊な細菌として他種細菌とは別個に理解しようとする。現状に於ては斯様な理解も亦已むを得ないかも知れないが、それは結局結核の病理、免疫の理解を、或は診斷法の確立を、或は又豫防、治療の對策の樹立を妨げ、混迷に陥れているのではなからうか。既往の多數の業績は既に成書に集録せられたものが多いから、此處では多少とも注目すべき特色のある研究の二、三に就て述べ、なお其の後に現状に於て如何なる疑問が残るかを吟味したい。而して此の疑問の闡明のために試みた私の實驗、觀察の結果を總括し、是等既往の業績と比較、對照しつつ、結核菌乃至一般ミコバクテリウムの形態及び發育様式に就て考察を試みたい。

2. G形に關する研究

かつて Hadley は志賀赤痢菌の培養濾液を放置する事によつて、その中に微小體の出現するのを觀察した。此の物は圓形顆粒状で、明らかに可視限界の微小體であつて氏は此の物を細菌の發育過程中の一時的な移行形乃至は段階であると判斷した。而して此の微小體は濾過形そのものではないが、濾過形から發育する最初の可視形態であつて、當

初はブイヨン其の他の液體培養基にのみ發育し、後には寒天培養基にも發育する事が出来る。而して此の形態に固定する事もあり、又通常の細菌の形態に移行する事も出来る。其の後 Löhnis は Azobacter に就て、又 Enderlein は其の他の數種の細菌に就て、又 Panek a. Zakharoff はミコバクテリウムに就て、又 Kendall は腸チフス菌に就て同様の觀察を遂げ、何れも等しく上述 Hadley の見解を支持し、G形は各種の細菌に普遍的に現われる事を明らかにした。

今結核菌に關する同様の研究を見るに Miller は人型結核菌 H37 から得た着色變異株の濾液を放置する事によつて、非抗酸性の球菌狀、雙球菌狀、桿菌狀及びデイトロイド狀の形態が發育するのを認めた。又同様にして Mellon a. Fisher は鳥型結核菌及び非病原性抗酸性菌の培養濾液を濾過の直後ブイヨンに混合し、7日後に既に顆粒狀及び球菌狀の形態が發育するのを認め、それを更に血液寒天に移すことによつて原菌形に復歸するのを觀察した。Thuringer a. Rutler; Thuringer, Butler a. Wilber も亦數株の人型結核菌を供試し、濾液を種々の日數放置する事によつて、上述研究者等と略々同様な非抗酸性の種々な形態の發育するのを認めた。最近我國に於て笠原は鳥型結核菌及びBCGの浮游液に超音波を作用せしめて後濾過し、濾液を培養して抗酸性の菌體を得た。氏は電子顯微鏡可視の菌體內顆粒が超音波作用によつて菌體から游離し、濾過せられて發育したものと判斷した。

上述G形に關する研究は、ムツラ顆粒を菌體から分離して純粹に採り出し其の再生能力を確めよ

うとした彼の有名な Fontès の濾過実験、即ち動物接種による濾過形の研究を一步進めて濾過形から桿菌形に移行する中間の發育形態の存在を形態的に立證しようとしたものである。併し乍ら培養濾液の放置によつて、其の中に一定の可視形態の出現するに要する日数なり、又其の場合の温度——多くの場合は室温放置——なり又發育し來たる形態なりが必ずしも常に一定しない等の諸點に、なお不安と疑惑を招く餘地が多分に存する如く考えられる。例えばペドリ皿に盛つた卵培養基上の結核菌から濾液を作つた時は、上述研究者等の如き所見に到達する場所があるが、併し若し試験管に培養した結核菌から濾液を作つた場合は、同様の結果を見るを得ない點から見て、kahn は濾液中に出現する如上の形態は恐らくは混入した雜菌に由來するものであらうと斷じたが、動物接種による結核菌濾過形の立證が絶えず受けたと同様な斯様な苛酷な、反駁を此の種研究も亦受けなければならぬ事は實驗方法そのものから考へて又已むを得ないかも知れない。併しながら此の様な反駁はともかくとして、行き悩んだ結核菌濾過形の研究を一步前進せしめようとする斯様な研究には注意する要がある。

3. ミクロマニプラトールによる觀察

上述の如く見る時、動物接種による濾過形の實驗にしても、亦上述の形のそれにしても、實驗方法そのものに根本的な不安の伴う事は争われない。従つて斯様な不安を抹消すべきより安全な新しい方法、手技の考案がない限りは、濾過形及び日形に關しては因より、それらに立脚する發育環の主張に關しても亦論争は盡きるところを知らないのであらう。結核菌の形態——それは勿論その發育の過程と關聯せしめつつ、即ち甲の形態から乙の形態へ、更に丙の形態へと系統立つた配列に於て觀察するのだからである。斷片的な形態的變化を觀察して、それを觀念的に連結せしめ、其處に一つの發育環を想定するのも、現状に於ては理解の仕方であるかも知れないが、斯様な理解には常に不安が伴う。

此の様な理由で私は最も直接的な方法と考えられるミクルルギーの與える所見に多大の期待を持

つた。此の方法を試みた研究者としては Sweany ; Kahn a. Torry 等が最初である。併しながらそれ等の研究者の得た所見は私の期待を裏切つた。それ等の研究者の追跡し得た發育様式は必ずしも單純なものではない。例えば Kahn の所見を吟味するに1個の菌體が4個内外の顆粒に破碎し、夫々の顆粒は更に進んで2個宛に分割し、斯様にして遂には極めて多數の細い纖維狀の形態に變化する場合もあれば、1個の顆粒が伸長して桿菌狀となる場合もあり、或は又桿菌形の一端に見出される顆粒から細い絲狀の突起を出し、恰も發芽を想わしめるが如き場合もある。既にミクルルギー乃至は類似の方法によつて觀察を企てた研究者は少くなく、Mellon ; Wykoff ; Wykoff a. Smithburn ; 中村 ; 占部等を擧げる事が出来る。併しながら是等の研究者の得た所見も亦實に區々であつて、結核菌は果して斯様な區々な發育様式を自由にとり得るものであらうかと驚く。成程是等の所見に就ては、顯微鏡下に捕えた菌體なり、或は顆粒なりが、染色せられない状態では、それが生活力乃至發育力を持つた菌體乃至は顆粒であるか、或は又菌體から游離した生活力を有しない變性産物としての顆粒乃至は老廢した菌體であるかによつて、其の後の變形の過程は當然相違するであらう事は、容易に考え得られるところであつて、所見の中の或るものは Oerskov の如く、明らかに變性、崩壞の過程を示すに過ぎないものもあり得るであらう。

4. 集落切片標本の觀察

此の觀察法の考案は決して新しいものではないが、その考察の獨創的な事が、得られた所見の興味ある事とともに注目に値する。蓋し從來形態的變化に關する觀察は、専ら培養或は喀痰等の病原材料の塗抹標本乃至は病竈組織の切片標本に就て行われたのであつて、たとえ其處に種々形態、染色性を異にする菌體を見出し得たとしても、それ等の相互の自然の配列を窺い難い結果は、如何なる形態が如何なる形態に發育乃至變性、移行して行くか、系統立つた所見を得るに困難がある。此の困難を打開する方法の一つは、集落内部に於て種々形態、染色性を異にする菌體が、自然に相互に

如何なる關聯に於て存在するかを確めるにある。而して此の事を初めて可能ならしめるに成功したのは Bezançon et Philibert; Bezançon, Philibert et Hauduoy である。即ちグリセリン、ブイヨンに發育した可成り厚い菌膜を固定して切片標本とし、フオンテ染色法を施して觀察した。それによれば、菌膜中には明らかに2層を區別する事が可能であつて、下層即ち培養基に接する層は主として抗酸性の菌體から成り立ち比較的薄い上層には抗酸性の菌體はむしろ少く、更に菌膜の邊緣の極めて菲薄な、恐らくは養素の供給の不充分であろうと考えられる部分に於ては、抗酸性の菌體を殆んど見出さなかつた。而して菌膜は決して菌體が單に集積した如きものではなくして、一定の構造を有する。此の事はグリセリン馬鈴薯上の集落に就ても同様であつて、構造の主體をなすものは非抗酸性、メチレン青易染性の纖維狀乃至紐狀の、複雑な吻合を形造る一種の支持體とも見られる物質であつて、抗酸性の菌體は唯其の表層に横たわるに過ぎない。而して氏等は此の物質を Substance cyanophile と呼んだ。氏等は幼弱な培養に就ても亦觀察を重ねた結果次の如く結核菌の集落中に三つの基本的な形態的要素を區別した。即ち結核菌は先ず上述した如き複雑に吻合交錯する纖維狀乃至紐狀の Substance cyanophile として發育を始め、頗て其の一定の部位から桿菌形を生じ、次いで桿菌形中にムッフの顆粒が形造られる。桿菌形の變性崩壊するとともに顆粒は遊離し、新しい發育の出發點と成る。斯くの如くして氏等は桿菌形が結核菌の發育過程中の一段階に過ぎない事を明らかにした。

氏等の觀察は從來我々の窺知し得なかつた集落内部の構造を明らかにすると同時に、發育様式の理解に一つの手懸りを與えたものであつて既に Micsky; Legou et Magron; Kahn a. Nodinez; 吉田; 植田等によつて確められた。今 Kahn a. Nodinez の所見を吟味するに、氏等は菌膜及び卵培養基の集落を切片標本として、チール・ネールゼン染色法を施して觀察し、上述フランスの研究者等とは多少相違して、集落中に3層を區別した。最下層即ち直接培養基に接着する層は赤染

し、主として長大な濃染した抗酸性桿菌形から成り立ち、少數の青染した桿菌形及び顆粒を混じる。中間層は稍々淡く赤染し、淡く赤染した桿菌形及び顆粒から成り立つが、同時に可成りの數の青染した顆粒及び桿菌形を混じる。最上層は青染し、極めて多數の青染した桿菌形及び顆粒から成り、少數の抗酸性の桿菌形を混じる。而して氏等は最上層を以て最も發育の盛んな部分と判斷し、其處に見出される青染顆粒から同桿菌形へ、更に進んで下層の濃染顆粒を持つた抗酸性桿菌形への發育の過程を推測した。

併しながら Bezançon et Philibert のいう Substance cyanophile なり、又 Kahn a. Nodinez の非抗酸性メチレン青易染性の顆粒なりは、果して何物から如何にして發生するか。上記研究者等はともに成熟した菌體中に出現するムッフ顆粒との關係を考慮している如くであるが、ムッフ顆粒の生物學的意義に關して疑義のある今日、果して氏等の考え方を其の儘受け入れる事が可能であろうか。

以上結核菌の形態及び發育様式に關する特色ありと思われる研究の二、三を吟味したが、尙且つ我々は從來の混迷から脱する事が出来ない。實驗が多岐となるに従つて理解はむしろ困難を加える。併しながら上述マイクロマニプラトルによる觀察が區々な所見を結果したとはいえ、その中に發芽、分岐による發育様式を想わしめる如き過程を觀察した研究者が少くなかつた事、此の點に關しては最近我々の研究室で片山、大岩が行つた觀察の結果からも明らかであるが種々な變形の中に明らかに發芽、分岐を想わしめる様な過程がある。此の様な事實並びに集落の切片標本による觀察に於て、非抗酸性の形態と通常の抗酸性の形態との關係が多少とも明らかにせられた事は注目に價する。是等の諸點が私の實驗の端緒と成つた。以下私の觀察の結果を簡単に申し述べ、是を既往の多數研究者の觀るところと比較對照しつつ、結核菌の形態及び發育様式に就て考察を試みたい。

實驗 1. 集落の内部構造

斜面集落

卵培養基上の集落を切片標本とし、チール・ネールゼン染色法を施して観察するに、斜面集落は吻合、交錯した細い溝によつて縦横に貫かれた海綿状ともいふべき構造を持つ事を知る。此の細い溝によつて貫かれた集落の基質ともいふべき部分は、非抗酸性メチレン青易染性の桿菌形及顆粒を以て満たされ、その溝に臨む部分にのみ束状に密集、配列した抗酸性の桿菌形及び顆粒が認められる。陳舊な集落に於ては、基質は大小の空胞によつて占められ、その溝に臨む部分にのみ束状に密集した抗酸性の桿菌形及び顆粒が層状に配列し、集落の形態は此の抗酸性の菌體から或る薄層によつて辛うじて保持せられているが如くである。

即ち私の観察は上述の研究者就中 Kahn a. Nodinez のそれとは異なる。結核菌がただ単に集積して、その表層から増殖するという考え方は、私の所見からすれば到底首肯し難い。畢竟氏等が集落内部の微細構造を明らかにする事が出来なかつたのは、切片標本を作成する手技の不備に歸すべきものと考える。

而して私が集落中に觀た此の細い吻合する溝は比較的乾燥した斜面上での發育を可能ならしめるための、巧妙な適應ではないかと考える。と同時に此の所見は、斜面集落、菌膜及び深部集落の内部構造の一貫性を立證するために試みた次に述べる實驗の手懸りと成つた。

菌 膜

發育初期の菲薄な菌膜を載物硝子に貼付して染色、觀察した。その所見は上述 Bezançon et Philibert のそれに類似し、纖維状乃至紐状の構造が複雑に吻合、交錯したものである。此の纖維状構造の中軸は一般に非抗酸性であり、その表層には抗酸性の菌體が束状に密集、配列する。而して纖維状構造の中軸は上述フランスの研究者等のいつた如く決して均質無構造の物質ではなくして、其處には無数の非抗酸性、メチレン青易染性の桿菌形及び顆粒が認められる事に注意しなければならない。

深部集落

キルヒナー培養基の深部集落は其の纖維状構造が繊細である以外は其の構造は上述菌膜のそれに

よく類似し、なお又纖維状構造中に於ける抗酸性及び非抗酸性の形態の配列の關係も亦略く上述菌膜に類似する。

即ち菌膜及び深部集落が共通、一貫した構造を持つ事は自明であつて、其の構造上の特徴は吻合、交錯する纖維状體である。これを上述の斜面集落に比較、對照する時、一見顯著な差異があるが如くにも考えられるが、次の如く推測する事は許されないであらうか。即ち斜面集落に於ては吻合した纖維状體が環境に適應して相互に密接し、集落内部に觀察した細い溝は密接した纖維状體の間に辛うじて残された間隙であると推測する事は許されないであらうか。逆に菌膜の構造は斜面集落中の密接した纖維状體が少々粗に離開したものであり、深部集落の構造は更に一層粗に離開したものであると推測する事は許されないであらうか。

實 驗 2. 集落内部構造の一貫性

上述の推測が誤りでない事は、次のような簡単な實驗によつて立證する事が出来る。

(1) 結核菌を接種した卵培養基を横倒しにして、凝結水を以て斜面を潤おしつづ培養を続ける。適當の日數の後發育した集落を切片標本として觀察するに、上述斜面集落の溝は少々離開して、集落は少々粗な構造を呈する。

(2) 結核菌を接種した卵培養基にキルヒナー培養基を注いで、斜面を完全にキルヒナー培養基中に沈潜せしめて培養を続ける。然る時は其の基部を辛うじて斜面上に支持せられた一見海藻状の集落が、キルヒナー培養基中に浮上して發育する。此の集落をとつて載物硝子に貼付し或は切片標本として觀察するに、上述のキルヒナー培養基の深部集落と略く等しい構造を示す。

上述の二つの簡単な實驗の結果から、斜面集落の構造に就て爲した上述の推測が誤りでなかつた事を確め得るのであつて、結核菌集落の構造の一貫性を端的に立證し得たと考える。

實 驗 3. 非抗酸性形の形態、染色性並びに配列

上述の菌膜及び深部集落の切片標本から見れば、纖維狀構造は主として其の中軸に在る非抗酸性の形態と、主として其の表層に配列する抗酸性の形態とから成り立つ。而して菌膜或は深部集落の貼付標本を觀察する際、纖維狀構造が殆んど常に束狀に配列した無数の抗酸性の形態を以て埋められ、その間非抗酸性の形態を見出す事が困難である事は、よく上述切片標本の所見を裏書きすると考える。併しながら此の觀察の不十分である事は、菌膜或は深部集落の貼付標本をレフレル氏メチレン青液で室温1乃至2分間染色したものを觀察する事によつて知られる。即ち纖維狀構造中には表層、中軸の別なく、メチレン青易染性の桿菌形及び顆粒が觀察出来るのであつて、此の事から考察すればチール・ネールゼン染色法では表層の非抗酸性の形態は混在する抗酸性の形態に蔽われて觀察が困難となり、抗酸性の形態の比較的少い中軸に於てのみ非抗酸性の形態が觀察出来るのである事が理解せられる。

なお興味のある事は、此處に觀察した非抗酸性の形態はメチレン青以外各種の鹽基性アニリン色素によつても亦容易に染色せられるのみならず、グラム染色法にて淡染せられ、なお又稀薄なメチレン青液にて新鮮標本染色が可能である事である。

即ち以上の所見を綜合するに、結核菌集落中には明らかに染色性を異にする2種の形態が存在する。一は抗酸性、難染性、グラム陰性(但しムツフ顆粒は陽性)、新鮮標本染色で不染性であり、他は非抗酸性、易染性、グラム弱陽性(但しムツフ顆粒は陰性)、新鮮標本染色で可染性である。是等2種の形態の相互の關係を闡明する事が、とりもなおさず結核菌(ミコバクテリウム)の發育様式を解明するのではないかと考えられる。併しながら、ただ其の位置の關係から見て、直ちに後者を以て前者に發育すべき前の段階であるとする Kahn a. Nodinez との判断は早きに失する嫌いがある。何故ならば今假りに斯様な判断が許されたとしても、それでは非抗酸性の形態は何物から如何にして生じたかという疑問に逢着して忽ち返答に

窮するからである。併しながら上述の如き材料、方法を以てしては、到底は以上の穿鑿は困難であるが、幸いにして發育初期の小形、菲薄の集落の觀察はよく此の疑問に解答を與える。未だ嘗つて試みられなかつた斯様な初期集落の觀察は、又同時によく結核菌(ミコバクテリウム)の發育様式及び發育のそれぞれの段階に於ける形態、染色性の推移を容易に理解せしめる。

實驗 4. 發育初期集落の觀察

方法に就ては、此處には概要を述べるに留める。

(1) ソートン培養基上の菌膜が液面の半ばを蔽つた時に、菌を膜沈下せしめない様注意しつつ、培養瓶を稍々強く動揺しめて菌膜を2, 3片に破碎する。斯様にしたものを更に2乃至3週間 37°C に、或は室温、暗所に3乃至4週間静置する時は、厚い菌膜に接して或はそれから離れた液面に、孤立した或は2, 3箇宛集合した、直徑：乃至2mmの、灰白色、圓形、菲薄な初期菌膜が點々と發育する。是を小形のスペーテルにて注意深く掬い取つて、豫め卵白グリセリンを薄く塗布した載物硝子に貼付する。

(2) キルヒナー培養基に培養する時は、それぞれの菌型に應じて一定日數後に菌膜が発生するが、肉眼にて認め得る程度に發育する直前に、ルーペの助けを藉つて初めて認め得る程度のものを(1)同様にして掬い取つて載物硝子に貼付する。

(3) キルヒナー培養基の極初期(1週間以内)の深部集落をピベットにて靜かに吸引して、(1)同様にして載物硝子に貼付する。

上記3種の材料の中(1)が最も鮮明な標本を與えるが、(1)の方法によつて菌膜を作り難い菌株に就ては(2)或は(3)を以て満足しなければならぬ。

是等の方法によつて得た初期集落をチール・ネールゼン法にて染色した標本を觀察する事によつて、各種の形態、染色性の菌體の自然の配列を初めて明らかにする事が出来る。配列は勿論菌型によつて多少の相違はあるが、其の基本的なものは常によく一致する。觀察の容易なスメグマ株の所見を中心として其の概要を記載すれば次の如くである。

即ち菌體は常に鎖状に連なり連鎖は相互に接着して集束を形造る傾向がある。其の傾向は非病原性抗酸性菌に於ては顯著でないから、その初期菌膜は連鎖が四方に放射状に伸びて恰も樹根状を呈するが、病原性抗酸性菌に於ては其の傾向が顯著であつて、連鎖は初期から相接して集束を形造り、集束は相寄り、菌膜は當初から膜状を呈する。

連鎖の先端には常に非抗酸性、メチレン青易染性の糸状の形態がある。その長さはスメグマ株に於ては8乃至9ミクロンにも達し鳥型菌はそれに次いで長く6ミクロン内外であり人型及び牛型菌に於ては比較的短く3乃至4ミクロンである。糸状形の基部には通常數個の濃染顆粒——人型、牛型及び鳥型菌に於ては通常1個——を認める。次に連なるものは上述同様非抗酸性、メチレン青易染性の桿菌形であつて、その長さはスメグマ株及び鳥型菌に於ては3ミクロン内外であり、人型及び牛型菌に於ては乃至1.5乃至2.5ミクロンであつて、通常その内部に數個の濃染顆粒——人型及び牛型菌に於ては通常1個——を持つ。次に連なるものは上述同様の桿菌形であるが、通常その一端から非抗酸性、メチレン青易染性の小突起を出すか、或はその一極にメチレン青易染性の比較的大なる顆粒を有し、菌體は平等に淡紫赤色乃至淡桃色に染色せられ、抗酸性を示す。次に連なる桿菌形は稍々濃く赤染し、その一端から非抗酸性メチレン青易染性の比較的長い分枝を出す。以下順次連鎖を基部に追跡すれば、桿菌形の抗酸性が次第に高度となるに伴れて、漸次顆粒状の構造を示し來たり、遂には菌體内に3・4個の濃赤染顆粒を認め顆粒と顆粒との間隙は不染の儘である。連鎖の基部に於ては桿菌形の輪廓は不分明となり、遂に消失して抗酸性の顆粒のみが念珠状に連なるに至る。と同時にそれぞれの桿菌形に附隨した分枝は次第に長く成り、非抗酸性糸状形のみであつたものが、次にはその後非抗酸性の桿菌形を連ねたものとなり、次々次第に多數の抗酸性桿菌形を連ねた長いものとなり、主幹の連鎖に等しい連鎖を形造り、更にその中の桿菌形から小分枝を出すに至る。因みに分岐の様式は非病原性菌と病原性菌とは多少相違する。即ち前者に於ては桿菌形

の後端とそれに續く桿菌形の前端とから、向い合つて併し相互に喰ひ違つて發芽、分岐するのが通常であるが、後者に於ては桿菌形の前端から、交互に左右方向を異にしつつ發芽、分岐する此の發芽、分岐の様式の相違が上述の如き集束形成の傾向を左右し、従つて初期菌膜の形狀を結果するものと考えられる。

上述の如く漸次形態、染色性を變化する菌體から成り立つ連鎖こそは、結核菌(ミコバクテリウム)の發育様式を我々の前に端的に展示するものである。上述の觀察から直ちに抗酸性の形態よりは非抗酸性の形態が、結核菌(ミコバクテリウム)の發育過程中に樞要な役割を演ずる事を理解し得るが、なお次の如き染色法を試みる事に依つて、その理解を確固としたものとする。上述と同様にして作つた標本をヘマトキシリン液(Heidenhain法)及びギムザ液にて染色するに、連鎖の先端の糸状形、それに續く桿菌形及び發芽のみが常に濃染し、それらの後に續く多數の桿菌形——抗酸性桿菌形に相當する——は何れも殆んど染色せられない。

即ち連鎖の先端に位する非抗酸性の形態こそ結核菌(ミコバクテリウム)の發育に直接たずさわる要素であつて、抗酸性の形態は、發芽によつて生活物質の脱出し去つた後の變性の過程を辿りつつあるものと見做すべきではなからうか。此の點に就ては後刻更に検討を加え度い。

なお、上述同様にして作つた標本をムツフ染色(ワイス改良法)するに、糸状形、それに續く桿菌形中には顆粒を見ずして、發芽後の桿菌形中に初めて微細な顆粒を見出し、連鎖の基部に進むに伴れて次第に大形の顆粒を見る。

實驗 5. 組織内の集落

上述したところによつて、體外、培養基上に於ける結核菌(ミコバクテリウム)の發育様式と、發育、變性に伴う形態、染色性の變化を明らかにする事が出來たと考えるが、次には體內組織内に於ても亦同様な様式に従つて發育するか、乃至は全く異なる様式に従うかを吟味しなければならない。其のために結核菌感染モルモットの組織の塗

抹標本、及び切片標本、肺結核患者の喀痰、同空洞穿刺液、腎臓結核患者の摘出した腎臓の乾酪化組織の塗抹標本及び鼠癩菌感染白鼠の皮下肉芽組織の塗抹標本を何れもチール・ネールゼン法其の他ににて染色して観察した。

組織内の集落は培養基上のその如く整然とした配列をとらず、観察は常に必ずしも容易でないが、集落中には明らかに非抗酸性、メチレン青易染性の形態と、抗酸性の形態とが短い鎖状の配列をするのを観察する事が出来る。更に腎臓の乾酪物質の塗抹標本に於ては、明らかに纖維状構造を示す小集落を観察した。

上述の所見は培養基上のその如く鮮明なものではないが、なお且つ體內、組織内に於て結核菌（鼠癩菌）が、體外、培養基上に於けると同様の様式に従つて發育する事を理解せしめるに足るのである。

總括並びに考按

集落の外観と其の内部構造

結核菌（*ミコバクテリウム*）の集落は、その發育する環境の相違するに従つて、外観に稍々著しい差異を生じ、同時にその内部構造にも亦一見顯著な差異が見られる。併しながら上述の観察からすれば、それは單に環境に従つて見かけの構造を異にするに過ぎないのであつて、基本の構造は常に共通、一貫したものである。組織内に於て作られる集落も亦、培養基上のそれと同一の基本の構造を持つものと判断せられる。

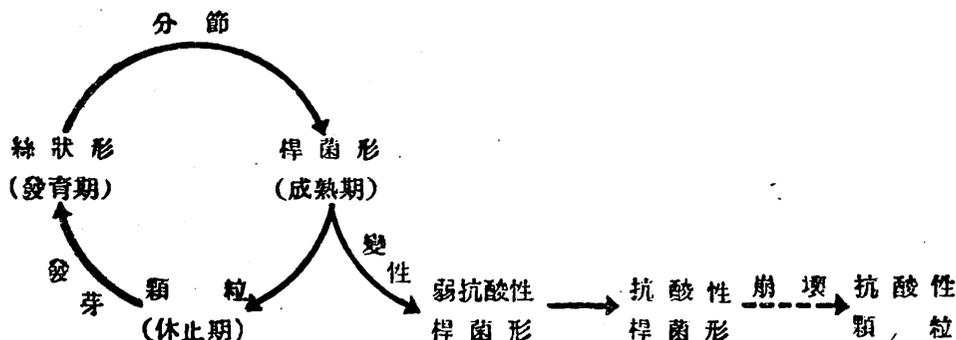
發育様式

斜面、液面及び液面下の集落の切片標本及び貼付標本からも、發育様式に關する或程度の推測を下し得るが、發育極初期の集落の観察に依つて初めてそれを闡明する事が出来る。それぞれの形態、染色性の菌體の配列及び發芽、分岐の様式等から考察する時、連鎖の先端に位置する非抗酸性の絲狀形を最も重要視しなければならない。而しつ絲狀形基部の濃染顆粒を持つ部分と是に續く非抗酸性の桿菌形とが構造、染色性の一致する點から考察して、桿菌形は絲狀形基部の分斷して生じたものと判断するのが最も自然ではなからうか。

即ち絲狀形は菌絲にも擬すべきものであつて、發育、伸長する他方漸次其の基部から成熟して、構造に變化を起し、遂に節狀に分離する。即ち分節を生じる。斯くの如くして生じた分節が即ち桿菌形である。桿菌形内部に於ては構造特に核物質の分布の變化は更に進み、核物質は遂にその一極に集まり、やがてそれから發芽する。發芽は發育、伸長して、上記同様の過程を繰り返す。而して發芽によつて生活物質を失つた分節——桿菌形は組成、構造に顯著な變化を起し、或種の變性の過程を辿る。従來結核菌（*ミコバクテリウム*）の菌體組成を化學的に分析した多數研究者の成績を参照するならば、此の變性がどのような性質のものかは自ら明らかとなる。即ち分節——桿菌形内には脂質が増加し、又特殊な結合状態に達し、其の結果が抗酸性という染色上の特徴として観察せられるのではないであらうか。抗酸性に變じた分節——桿菌形から後刻遅れて再び發芽するのを決して見ない點から考えて、抗酸性の桿菌形を既に發育力を失つたものと判断して誤りはないであらう。而して此の判断の誤りでない事は、次の所見によつても亦裏書きせられる。即ち當初平等に弱抗酸性であつた分節——桿菌形が連鎖の基部に進むに伴れて、換言すれば時間が経過するに伴れて、次第に顆粒状の構造を示し、桿菌形の輪廓が消失するに至れば、遂に顆粒は露出して念珠狀に連なるに至るからである。

即ち發育力を持つ要素は専ら連鎖の先端に位置する非抗酸性の形態であつて、其の發育は形態の變化の點から見る時は、絲狀形から桿菌形へ、桿菌形中の顆粒から發芽へ、發芽から再び絲狀形へという過程を繰り返す。又核物質の消長の點から見る時は、當初絲狀形中に平等に分散した核物質は、成熟に伴れて其の基部に顆粒狀に凝縮し、やがて其の部分が分斷せられるとともに桿菌形に移行し、後發芽するに至れば其の内部に平等に分散する。即ち核物質の側から見れば、相の變化の繰り返えしである。

此の發育様式を要約、圖示すれば下圖の如くである。



集落形成の過程

上述の如くして生じた多數の連鎖は相互に相接する傾向がある。其の傾向は人型及び牛型菌に於て最も顯著であつて、鳥型菌それに次ぎ、スメグマ株に於ては比較的顯著ではない。此の事は一つには發芽、分岐の様式とも關係すると考ふる。

斯くの如くして發育して生じた菌體——分節は順次鎖狀に連なり連鎖中の菌體——分節から生じた分枝が是に接着し、又分枝相互も接着する。分枝から更に分枝を生じ、新しく生じた分枝は密接した連鎖と連鎖との間の有るか無きかの間に楔入、伸長する。其の結果は當初1本の連鎖に過ぎなかつたものが、次第に多數の連鎖からなる集束に變ずる。此の集束こそは上述集落中の纖維狀の構造そのものであつて、それが複雑に吻合、交錯したものが集落であり、菌膜である。而して吻合、交錯の粗密の差が集落の外観及び構造に一見顯著な差異を齎すに過ぎない。

多形態性の主張批判

結核菌乃至一般ミコバクテリウムに就ては、古くから多數の研究者によつて種々な形態、染色性が記載せられた。其の結果は一般に多形態性を是認しようとする傾向にある。併しながら私が上述の如く連鎖中に觀察した種々な形態、染色性を、是等多數の研究者によつて記載せられたそれと比較、對照する時、それぞれよく一致するのに一驚する。即ち多數の研究者の記載した形態、染色性、例えば非抗酸性絲狀形、同桿菌形、同顆粒形、發芽形、分岐形及び長短不同の抗酸性顆粒形は、いずれも上述私の觀察した連鎖中に見出される。即ち

此の事から多數研究者の得た所見が、いずれも誤りでなかつた事が判明すると同時に、それらが個々斷片的な所見に過ぎなかつた事が明らかとなる。従つて又此の様な斷片的な所見に立脚したために、其の當然の結果として區々な發育様式が考案、提唱せられたのであろう。

形態、染色性並びに配列に関する其の他の疑問

第1は集束の表層に抗酸性の形態が多く、其の中軸には非抗酸性の形態が多いのは何に因るかという疑問である。此の疑問に對しては次の如き解答が用意せられるのであろう。即ち上述の如く連鎖が相互に接着し、更に新しく生じた多數の分枝が次第に連鎖と連鎖との間の有るか無きかの間に楔入、伸長する結果は、集束を形造る連鎖相互の接着は次第次第に緊密となる。其の結果は集束の表層に在る菌體に比較すれば中軸に在るそれは機械的に壓迫せられ、養素の攝取も亦妨げられ、其の發育が妨げられる結果は中軸には變性した抗酸性が少いのではないであらうか。

次に喀痰或は培養菌の塗抹標本を檢鏡する際結核菌が鎖狀の配列をせずして、むしろ多くの場合束狀に配列するのを觀るのは我々の日常經驗するところである。此の事は從來結核菌を細菌と見做す立場からすれば、當然疑問となる。併しながら上述の如く理解した發育様式、更に進んで集束形成の過程から見れば、當然の結果である。即ち上述の如くして集束が形造られる結果は、集束中の菌體は相互に横の接着が極めて緊密であるから、集落従つて集束が破砕せられる時は、菌體は連鎖狀に剝離するよりは、むしろ横に束狀に、離斷せられ易い事に因るのであろう。

更に結核菌乃至一般ミコバクテリウムは直桿菌として出現する場合もあるが、往々にして多少とも彎曲した形態を示す事は、既に古く R. Koch の記載にも見るところであり、又我々の日常経験するところである。此の形態上の一つの特徴は、實に發芽に際して起るところの變形の結果に外ならない。即ち鎖状に連なる菌體の端部から發芽するため、發芽する菌體とそれに續く菌體とは相互に喰ひ違つて彎曲する結果に外ならない。

又結核菌乃至一般ミコバクテリウムの抗酸性が菌體被膜の性質と密接な關聯があるやに主張する研究者が決して少くないが、此の考え方が當らない事は上述の所見から自明である。即ち連鎖の基部に於て桿菌形の變性が進み、遂に其の輪廓が消失して顆粒が露出した場合に、なお且つ抗酸性を保持する事實を見れば明らかである。斯くて抗酸性は被膜の性質に因るよりは、むしろ桿菌形の變性に際して生じた脂質乃至は其の特殊な結合状態に因ると理解すべきであらう。

ムツフ顆粒と抗酸性顆粒

結核菌乃至一般ミコバクテリウム中に見出されるグラム陽性顆粒に就ては、再生能力を持つと考へる研究者は Much 以來決して少くない。併しながら上述の如くしてグラム及びムツフ染色法を試みた結果から見ると、連鎖の先端の絲状形、それに續く桿菌形及び發芽は何れも常にグラム弱陽性に染色せられ、その内部には殆んど顆粒を見ないが發芽後の桿菌形はグラム染色性が減弱すると同時に、其の内部に次第にグラム陽性の微細な顆粒が出現し、連鎖の基部に進むに伴れて顆粒は漸次大形と成り、1個の桿菌形中に3乃至4個の比較的大形の球状の顆粒として觀察せられ、桿菌形の輪廓の消失するとともに、念珠状に連なつた或は孤々に游離した顆粒として觀察せられるに至る。

此の所見を上述チール・ネールゼン染色法に依る所見、即ち連鎖基部の菌體內に於ては抗酸性物質が漸次顆粒状に濃染せられ、顆粒と顆粒との間隙は不染の儘であつて、恰も空胞の如き觀を呈するのと比較、對照する時は、此の不染の部分こそは實にムツフ顆粒そのものでなければならぬ事

が容易に判斷せられる。

ムツフ顆粒は上述の如く桿菌形が變性するに伴れて、其の中に含まれたグラム陽性物質が自然に次第に顆粒状に凝縮して生じたものであるが、抗酸性顆粒は發芽後の桿菌形中に初めて出現した抗酸性物質が、上述の如くしてムツフ顆粒が次第に膨大して行くに伴れて次第に其の間隙に壓縮せられて、二次的に形成せられたものである事が判斷せられる。因みに連鎖の基部に進み、ムツフ顆粒が次第に大形となるに伴れて、抗酸性物質が漸次顯著に顆粒状構造を示し來たと同時に、抗酸性の強さを増す事實、並びにムツフ顆粒が常に略々大さの一定した球状であり、抗酸性の顆粒は之に反して長短不同の短桿状である事實は、ともに上述の判斷を支持するのであらう。いずれにしても、此の2種の顆粒は菌體の變性に伴れて形造られるものであつて、發育力を有しない形態である事は明らかであらう。

非抗酸性の形態こそ病原そのものではなからうか

上述の如く闡明せられた發育様式に立脚する時、連鎖の先端に位する非抗酸性の形態こそは發育力——從つて同時に病原性、免疫原性を持つ要素であつて、抗酸性の形態及びムツフの顆粒はいずれも既に發育力を喪失し、變性した形態に過ぎない事が容易に理解せられる。斯くて結核の病原は抗酸性の桿菌形、即ち R. Koch の桿菌でもなく、又一部研究者が主張するムツフの顆粒でもないものであつて、實に上述の非抗酸性の形でなければならぬこととなる。

鼠癩菌に就ては未だ培養に成功せず、從つて培養基上の形態、配列を明らかにする事が出来ないのは遺憾であるが、上述組織内の菌集團の觀察からすれば、矢張り結核菌と略々等しい様式に從つて發育する事が推斷せられる。從つて此の場合も亦結核菌と同様にして、非抗酸性、メチレン青易染性の形態を病原としなければならぬのではなからうか。抗酸性の桿菌形、即ち Siefansky の桿菌は變性した形態であつて、既に發育力、從つて同時に病原性を喪失したものと見做すべきであらう。

人癩菌に就ては今回は供試する事が出来なかつたが、恐らくは鼠癩菌に近似するのではないかと推測せられるから、抗酸性の桿菌形、即ち Hansen の桿菌は人癩菌そのものではないのではないかと、いう事が推測せられる。

結核菌(ミコバクテリウム)の分類學上の位置

かつて Lehmann u. Neumann が非抗酸性絲狀形、分岐形等に関する當時の研究者の斷片的な所見をよく綜合判斷して、此の種の菌を放線狀菌に屬せしめ Mycobacterium と銘名した慧眼には敬服の外はない。併しながら Bergey (1939) は此の種の菌を再び分裂菌中に包括した。唯其の際真正細菌とは別に Actinomycetatales なる一目を設けて其の中に屬せしめ多少區別した。

結核菌以下一般ミコバクテリウムは上述の如く或時は分裂菌に屬せしめられ、又或時は分裂菌から分離せられ、其の分類學上の位置が判然としな。而して一般には分裂菌と絲狀菌との中間に位し、放線狀菌に近縁のものではなからうかというふうに漠然と考えられてきたのであるが、上述の私の觀察の結果からすれば、此の種の菌が分裂菌でないという事は、もはや疑う餘地はない。特に變性した菌體の示す染色上の特徴である抗酸性に立脚して銘名、分類する事が不合理でもあり、亦無意味でもある事はいうを要しないと思う。

此の種の菌が分裂菌でないとして、それでは分類學上如何なる位置を占めるべきかという點になると、在來のように簡単に放線狀菌に屬せしめる事が可能かどうか、此の點に就ては類似の二、三の菌を上述同様の方法で仔細に觀察した後に熟考したいと考えるが、暫定的には分裂菌から分離して放線狀菌に屬せしめ、ミコバクテリウムと呼ぶのがやはり穩當ではないかと考える。

濾過形の主張批判

結核菌の形態及び發育様式を論ずるに當つて看過してはならないものは、濾過形及び G 形に関する主張である。併しながら上述の如く明確に形態及び發育様式を闡明する事が出来た今、如上の形態及び發育様式を離れて、他に別な形態及び發育様式の存在する事を考える事は困難である。ただ併し上述絲狀形、それに續く桿菌形及び發芽の中

に觀た核物質は、それらの形態としてのみ發育力を發揮するものであつて、それらの形態が破碎せられ、微細な核物質の破片として遊離した場合には、もはや生活力乃至發育力を保持し得ないかどうかは、併しながら俄かに斷定する事は出来ないであろう。因みに發芽直前の顆粒は菌體が破碎せられ、遊離した場合にも、發育するであろう事は勿論容易に推測せられるが、併しながら此の物は濾過器を通過するには餘りに大形に過ぎる。

結核の細菌學的診斷法の再檢討

今や結核の病原を上述の如く見る時、其の細菌學的診斷法は當然再檢討を要するものとなる。非抗酸性の形態と抗酸性の形態とが多くの場合相伴つて出現するであろう事は推測せられるが常に必ずそうであるとは斷言出来ない。抗酸性の形態のみが出現して、非抗酸性の形態を缺く場合もあり、又その逆の場合もあるであろう。

癩の細菌學的診斷法も亦同様の理由で、訂正を餘儀なくせられる。

結核の病理、免疫及びアレルギー

結核の病理、免疫及びアレルギーが上述の如き發育様式と如何様に結び付いているかは、興味ある課題である。例えば病理組織學的變化は發育しつつある非抗酸性の形態に對する組織の反應と、變性、崩壞の過程を辿りつつある抗酸性の形態に對するそれとに分つて、分析的に再檢討する必要がある。又結核の免疫及びアレルギーの發現のためには、組織内に生結核菌が存在し、且つ發育しつつある事を前提とする事は一般に是認せられるところである。而も上述の觀察からすれば、發育力を有する要素は抗酸性の形態ではなくして、非抗酸性の形態であるから、結核の免疫及びアレルギーは此の非抗酸性の形態と關聯するところの生體の反應として再檢討せられなければならない。

同様の理由で、人癩及び鼠癩の病理及び免疫も亦、該當する非抗酸性の形態との關聯に於て再檢討せられなければならない。

結核菌の特別な抵抗力

結核菌は芽胞を形成しない細菌であるにも拘らず、種々な外界の影響に比較的よく抵抗する事を疑問とせられてきた。此の特別な抵抗力は果して

何に由因するか。蠟質被膜の存在を想定し、或は菌體に蠟質の含有の多い事を以て説明しようとする研究者が決して少くないが、何れも抗酸性の菌體を對象としたものであるから此處に論議するを要しないと思う。

結核菌の示す此の抵抗性の説明は上述の發育様式からすれば困難ではない。即ち結核菌の發育過程中には、上述糸状形の如く核物質の擴散した自由に發育する形態の時期と、核物質が凝縮したいわば發育の休止した發芽直前の顆粒狀の形態を示す時期とがある。後者の形態が一種の孢子であつて、一般發育形の細菌に比較して多少とも抵抗力が大である事は、容易に理解せられる。即ち結核菌乃至一般ミコバクテリウムの示す特別な抵抗性の立脚する形態の特徴を捕捉する事が出来たと考える。そして此の事は結核及び癩に對する治療法及び治療薬の研究に一つの據所を與えるであろう。

終りに臨み、私見を申述べる機會を與えられた本會會長服部峻治郎博士に深謝し、併せて學術研究會議から多額の研究補助金を得た事を申添えて謝辭に代えたい。

(追加) 有馬研究所 青山 敬二

1. 御發表によつて私共年來の主張が多くの點に於て裏書きされた譯で、此の點欣快に堪えません。

1. 示された索状集落の形態は私共の觀察中に於けるSとRの中間型の集落に相當するので、之は菌の體表物質が各個の菌を連絡するに足る程の粘稠度を有するが爲であり、若し典型的なS型菌に就て觀るならば、此の場合は體表物質が半流動性乃至水溶性である爲に各個の菌は連絡せず、各々孤立分散して均等培養になる。但し多くの場合結核菌が索状に成る事は普通の環境が結核菌に極端なS型發育を許さぬ爲であるに相違ない。

1. スメグマ菌、鳥型結核菌の集落の索状形態の有様も要は夫々の菌の體表物質の粘稠度如何に支配される譯である。

1. 願わくば今後S型を考慮の中に置かれて御研究を進められたいと念願し、敬意を表して追加する次第です。

(追加) 木村 廉

1. 最近余等の教室に於て行いつつあるフィル

ム培地培養法並びに其の變法に於て大體植田教授の發育型式と類似の成績を得るが發育の先端部に於ても非抗酸性菌を認め得ない。多少の抗酸性の減弱を認めるのみ。

2. かりに一步を譲つて、この所謂非抗酸性菌にのみ病原性ありといわんと欲すれば、抗酸性菌と非抗酸性菌とに就て別個にその病原性を動物實驗等によつて検討しなければならぬ。

(追加) 九州大學 戸田 忠雄

御發表の成績そのものはすべて正しいと思ひ。興味深く拜聴した。然しながら其の結論としていわれた抗酸性の桿菌そのものは變性した生活力のない菌だといわれる點に就ては論旨が飛躍し過ぎている。演者が述べなかつた他の方法で實驗を行えば、抗酸性型が生きているということはわかるのである。私共も結核菌の發育の過程に非抗酸性型の出ることは認めているのである。唯抗酸性型そのものの病原性、免疫學的意義をここで演者がいふような點までいふことが現在のところでは行き過ぎではないかと思ふ。

(回答) 植田 教授

青山博士に對して

菌體表物質に關する年來の御研究を興味深く拜見しております。そして發芽が直ちに主幹の連鎖に接着するという點から私も菌體表に何か或る物質があるのではないかと考えてはおりますが、未だ具體的に實驗は致しておりません。

(木村教授に對して)

御使用の方法はフィルム培地培養法に類似するものの如く考えます。緒言の中でマイクロマニプレーター乃至類似の方法による所見はどのように批判すべきかを申上げましたから、それによつて御理解を願いたいと存じます。

(戸田教授に對して)

御質疑の要點は非抗酸性、抗酸性の形態のいずれに生活力があるかという點にあるように考えますが、テルライトの還元作用が連鎖の先端の糸状形、それに續く桿菌形及び發芽に相當する形態にのみ認められたことから非抗酸性の形態にのみ生活力があるという確信を強めたという事を申上げてお答えと致したい。