

第4表 腋窩リンパ腺の大きさ(21年9~10月)

大 小	小手拳大	鶏卵大	鳩卵大	くるみ大	母指頭大	小指頭大	蚕豆大	豌豆大	小豆大	不 明
側 数	1	2	5	5	8	52	4	10	1	14

ビタミンKの結核菌に及ぼす影響

久留米医大細菌学教室

占 部 薫
弓 削 静 彦

(この研究は1部文部省科学研究費によつた)

は し が き

ビタミンKの類似物質である2-Methyl-3-hydroxy-1.4-naphthochinon, 即ちフチオコール〔I〕がLong 培養内での結核菌の發育を高濃度(1,000倍)では抑制し、低濃度(100 万倍)では逆に促進すると外山⁽¹⁾は報告しており、國保⁽²⁾も同じくNaphthochinon 系物質である2-Oxy-naphthochinon-(1.4)及び3-Amino-2-oxy-naphthochinon-(1.4)は8,000~16,000 倍で、また4-Amino-naphthochinon-(1.2)及び2-Amino-naphthochinon-(1.4)-imid-(4)は32,000~64,000 倍でKirchner 培養内の結核菌の發育を阻止するとのべている。

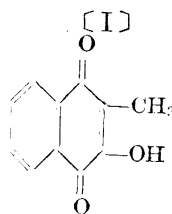
ところで以上の諸物質と同系統であるところのビタミンK(以下V.K)は、この点如何なものであろうか。最近戸田・阿武⁽³⁾は、Slide cell culture 法によつて検討した結果、V.K₃ の結核菌發育抑制作用はフチオコールのそれよりも劣る旨報告しているが、われわれはそれとは全く別個に以下述べるような方法によつて、試験管内並びに生体実験をおこなつた結果、この方面に新たな知見を加え得る成績をあげることができたように考えるので以下略報する。

A. 試験管内実験

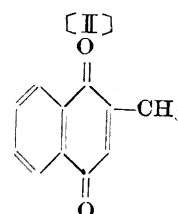
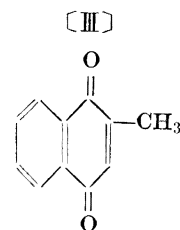
I. 実験方法

a) 供試 V.K : 武田薬品工業会社のカチーフ

液を用いた。この1cc 中にはV.K₃=2·Methyl-1.4-naphthochinon〔II〕の重亜硫酸ソーダ化合物=2·Methyl-1.4-naphthochinon-natrium bisulfite-verbinding〔III〕の10 mg を含んでおり、これはV.K₃ そのものとしては5 mg を含むこととなる。



O Phthiocol

Vitamin K₃

Kativ

NaHSO₃·2H₂O

b) 供試結核菌 : 岡片倉培地上4週間培養の人間型 Frankfurt 株及び牛型三輪株並びに同2週間培養の鳥型71号株より、それぞれ法に従つてつくつた生塩水による1mg/1ccの平等浮游液を用いた。

c) 培地 : 主としてpH 6.8の10%山羊血清

加 Kirchner 培液を用い、そのほか実験の目的によつては、4%グリセリン寒天培地及び岡片倉培地をも供試した。

d) 実施：① Kirchner 培液を用いる場合には、その5cc ずつに V.K₃ が 1,000 倍より 200 万倍までに遞減的に稀釋されるように加えたもの、及び対照として Kirchner 液のみ 5cc のもの(対照 I)、並びにカチーフ液に含まれる重亜硫酸ソーダの影響をみる目的で、Kirchner 液 5cc にこの物質を1,000 倍になるように加えたもの(対照 II)を用意し、これらすべてに上記の各菌液を 0.03 cc ずつ各別に移植し、管口を臘封し血温に 8 週間たもつ。その間毎週管底並びに液面における各型結核菌の發育程度を觀察したほかに、8週後の各管底よりの結核菌を毛細ピペットでとり出し、その菌長・顆粒数・抗酸・抗煮沸性についても検討し、さらに發育の陰陽境界附近の試験管の管底よりの結核菌については、V.K₃ 非添加 Kirchner 培液に還元培養することによつて、その生死を判定することをも忘れなかつた。

② 岡片倉培地並びにグリセリン寒天培地の場合には、V.K₃ が 1,000 倍より 2 億倍までに遞減されるように各別に加えたもの、及び対照として V.K₃ 非添加のものを用意し、その各々の斜面上に上記 3 型結核菌液の 0.045 cc ずつを滴加移植

し、室温 24 時間培地面を水平に保つたのち臘封して血温 8 週間培養し、結核菌の發育程度を比較追究した。

II. 實驗成績

a) Kirchner 培液による成績

1 人型 F 株の場合

表 1 に示すように V.K₃ の 2 万倍稀釋までは、菌の發育は全くみとめられず、而も 8 週後におけるその還元培養も陰性に終つた。従つてここではすでに結核菌は滅殺されたものとみてよからう。10 万倍でも相当に發育は阻止されたが、これよりの還元培養は陽性であつたから、結核菌は生存していたものと考えてよい。20 万倍でも培養 1~2 週までは対照より發育がかなり劣つたが、すでに 100 万倍以上になると發育阻止は全然みられなかつた。なお、対照 II でも対照 I と同様によく發育したことからすると、カチーフ中に V.K₃ と共存する重亜硫酸ソーダは、1,000 倍の濃度に於ても全然結核菌の發育に影響しないものとみてよから、この物質の實驗成績に及ぼす影響は無視されてよいものと思われる(このことは後出の牛型・鳥型菌の場合でも同様であつた)。

V.K₃ の濃度がますにつれて、菌長は短縮し菌体内顆粒は増加し、抗酸性及び抗煮沸性が微弱化することも表 1 に示すとおりであつた。

表 1 Vitamin K₃ の人型結核菌 F 株の發育に及ぼす影響

V. K ₃		—	五	—	二	—	二	—	二	対照	対照
稀釋倍数		千	千	万	万	○ 万	○ 万	○ 万	○ 万	(I)	(II)
培 養 日 数	1 週	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—
	3 週	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—
	5 週	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—
	8 週	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—
Kirchner 培液 への還元培養						(-)	(+)				
培 養 後 の 顆 粒	菌長(μ)	1.1	1.1	1.3	1.3	1.3	1.5	2.1	2.3	2.2	
	顆粒	3.5	2.7	2.6	2.4	2.4	2.2	2.1	2.1	2.0	

結核菌	抗酸性	弱	中	中	強	強	強	強	強	強
	抗煮沸性	6'	6'30''	6'30''	8'	8'30''	9'30''	11'	11'	11'

註：(1) 記号の分母は管底発育の程度を、分子は液面発育程度をそれぞれ示す。
(以下の表も之に倣う)

- (2) 表の大きさの関係で V.K₃ 稀釈倍数並びに培養日数は1部のみを表示するにとどめた。
- (3) 対照 I は V.K₃ 非添加 Kirchner 液、II は重亜硫酸ソーダ添加 Kirchner 液(本文参照)である。

2 牛型三輪株の場合

成績表は割愛するが、牛型菌では V.K₃ 1 万倍でその発育が完全に抑制され且つ還元培養も陰に終つた。2 万倍でもかなり強く抑制されたが元培養では発育してきた。10 万倍でも多少は制がみられたがすでに 20 万倍では対照と大差の発育を示した。なお、V.K₃ の濃度と菌長、粒、抗酸抗煮沸性との関係については、上の人菌の場合と同じ状況がみられた。

3 鳥型 71 号株の場合

これも成績表は略すが、鳥型菌では上記の人型の場合とすべて大体同様の成績がえられた。

b) 岡片倉培地による成績

表2 岡片倉培地へ添加した V.K₃ の 3 型結核菌発育に及ぼす影響

菌種	V.K ₃ 稀釈倍数 培養日	V.K ₃ 濃度								対照 V.K ₃ 非添加
		— 千	二 千	五 千	— 万	— 〇 万	一 〇〇 万	一 千 万	一 億	
人型 F 株	2 週	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	3 週	+	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	5 週	+	卅	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	7 週	+	卅	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
牛型三輪株	2 週	+	卅	卅	卅	卅	∞	∞	∞	∞
	3 週	卅	卅	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	5 週	卅	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	7 週	卅	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
鳥型 A 株	2 週	—	—	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	3 週	卅	卅	卅	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	5 週	卅	卅	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	7 週	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞

c) グリセリン寒天培地による成績

表3 に示すように、本培地においては、上の岡片倉培地の場合とは大いに趣のちがった成績を示した。即ち、人型菌は V.K₃ の 1,000 万倍まで

表2 に示すように、この培地に於てはさきの Kirchner 培養の場合とちがって V.K₃ を 1,000 倍のような、かなり濃厚に含むさいにでも鳥型菌の蒙る発育阻止作用は軽微にとどまり、人型菌牛型菌ことに前者はかなり抑制されはしたが、すでに 1 万倍或は 10 万倍程度になると Kirchner 液における場合とは大いに趣をこととして、対照に比して鳥型菌ではほとんど全く差を示さず、また人型菌牛型菌でもともに大差ない発育度を示した。また 1 億倍という高稀釈度に於ても、これらの菌の発育はとくに促進されるということもなかつた。

はその発育を強く抑制され、2 億倍では逆に著しく促進された。鳥型菌は 10 万倍まではつよく抑制されたが、10 万倍ではすでに全然抑制されず、2,000 万倍以上ことに 2 億倍のような高稀釈

度においては、逆にかなりその発育が促された。

表3 グリセリン寒天培地に添加した V.K₃ の結核菌発育に及ぼす影響

菌種	V.K ₃ 稀釈倍数 培養週	一	五	二	一	一	二	一	二	二	対 照
		千	千	万	〇 万	〇〇 万	〇〇〇 万	千 万	千 万	億	
人型 菌 F 株	1週	-	-	-	-	-	-	-	-	卅	-
	2〃	-	-	-	-	-	-	-	-	卅	-
	3〃	-	-	-	-	-	-	-	+	∞	+
	4〃	-	-	-	-	-	-	-	+	∞	+
	5〃	-	-	-	-	-	-	-	卅	∞	卅
	6〃	-	-	-	-	-	-	+	卅	∞	卅
鳥型 菌 A 71 株	1週	-	-	-	-	-	-	+	+	卅	-
	2〃	-	-	-	-	+	+	卅	卅	卅	+
	3〃	-	-	-	-	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	4〃	-	-	-	-	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	5〃	-	-	-	+	卅	卅	卅	卅	∞	卅
	6〃	-	-	-	+	卅	卅	卅	∞	∞	卅

B. 動物 實驗

I. 實驗 方法

Römer 反應陰性で体重 200~340g のモルモット 30 匹の右膝ベキ皮下に、4 週間培養の人型 F 株の生塩水による 0.01 mg/1cc の平等浮游液を 1cc ずつ接種したのち、10 匹ずつ 3 群にわけける。接種 3 週後より第 1 群にはカチーフ 0.5 cc (V.K₃ 2.5 mg) ずつを、また第 2 群には同じく 0.3cc (V.K₃ 1.5 mg) ずつを、左膝ベキ皮下に毎日注射をつずける。第 3 群は対照としてそのまま放置する。途中死んだものは除外して、接種後 4 カ月前後まで生き残つたものについて剖検し、内臓(肺・肝・脾・腎)及び諸所の淋巴腺(膝ベキ鼠蹊・腋窩・頸部・氣管支・腸骨・腸間膜・門脈・後腹壁)の変化を肉眼的に観察し、結核菌の分布をも検査し、肝・脾についてはそれらの重量をもはかる。さらに各動物の肺・肝及び脾より病理組織標本をつくり病理学的並びに細菌学的追究をおこなうほか、それらの内臓の 0.1g ずつを法に従つて岡片倉培地に培養し 8 週後の集落発生量をもよみとる。

Römer 反應及び体重はカチーフ投與開始直前(接種 3 週後)と剖検直前との 2 回觀察乃至測定した。

II. 實驗 成績

Römer 反應及び体重の觀察成績表は略すが、前者は接種 3 週後 (V.K₃ 投與開始直前) にはすべて大体強く陽轉していたが、4 カ月内外後には一般にその陽性度減弱し、ことに V.K₃ 投與群においてその傾向がよかつた。体重の推移については対照群と V.K₃ 投與群との間に著しい相違は

表4 V.K₃の実験(モルモット)結核に及ぼす影響¹⁾肉眼的所見総括

モルモット群	I	II	III (対照)	
4-月内外、剖検 おこなつた モルモット	6	7	6	
V.K ₃ 投與 投與量	2.5 mg 平均 312.5 mg	1.5 mg 平均 127.5 mg		
体重(平均)	310g 373g 427g	285g 329g 323g	322g 390g 338g	
剖検所見 (肉眼的)	肺の重量(平均)	0.63g	0.85g	1.15g
	淋巴腺	+	+	+
	鼠蹊	+	+	+
	腸骨	+	+	+

なく、しいていえばむしろ投與群の方に体重増加度のより大きいのがみられた。このことより V.K₃ の 1.5~2.5 mg の連日投與は、少くともモルモットに有害ではなかつたものと考へたい。

さて、結核菌接種後4ヵ月内外生存し、剖検に價したものは、第1群6匹、第2群7匹及び第3群6匹であつた。

いまそれらの肉眼的剖検所見を一括して示すと次のようである。

即ち、脾の重量は第1・2・3群の順に小さく、全般の結核病変もこの順で軽く、淋巴腺の腫大は結核性変化は第2・1・3群の順でかるかつ

病理組織学的所見では、結核病変はこのさいにも、量的には第1・2・3群の順で軽微であつたが、質的には各群間にあまり著明な差がみられなかつた。

結核菌の各淋巴腺並びに諸内臓における分布は塗抹標本と組織標本との間において必ずしも平行関係はなく、また幾分対照群に於てその分布がより濃厚であるかに見られたこともないではなかつたが、大体のところでは各群間に特にいふべき菌分布度の著差を見出すことはできなかつた。

然るに肺・肝・脾よりの培養の結果からみると表5にも示したように、生結核菌の分布は各群共通して脾・肝・肺の順に大であり、脾についてみ

ると第3・2・1群の順に、また肺と肝とに於てはともに第3・1・2群の順序にその分布が大きかつた。そしてこれらの分布程度を各群別に平均してみると、第3群(対照)に於てとびぬけて大であり、第1群はこれとかなりの差をもつて第位を2占め、第2群は第1群とわずかな差によつて生菌の分布最小ということになつた。

む す び

以上の成績を要約して次のことがいえると思ふ。

1. V.K₃ は Kirchner 培液に於ては人型・鳥型両結核菌の發育を2万倍までは完全に阻止するのみならず、さらに滅殺的にまで作用し、10万倍でも人型菌の發育をつよく抑制する。牛型菌はこれらに比してやや強くたえるものようで、1万倍では抑制され滅殺されるもするが、2万倍程度になると強く抑制はされてもすでに滅殺されることはない。

2. V.K₃ はグリセリン寒天培地において2億倍で人型結核菌の發育を、また2,000万倍~2億倍で鳥型結核菌の發育をそれぞれかなり強く促進する。

3. 岡・片倉培地によつたのでは、V.K₃ の結核菌に及ぼす阻止的及び促進的影響を顯著には実証できないようである。

5. V.K₃ は実験結核症に対してややみるべき治効を示すがこの程度では無論化学療法剤というわけにはゆくまい。

(この論文の要旨は、昭和23年12月11日、第12回九大細菌学教室集談会並びに昭和24年4月3日、第24回日本結核病学会総会で報告した)

主 要 文 献

1. 外山：結核，16巻，1077~1081頁，昭13
2. 國保：金沢医科大学結核研究所年報，3年，81~87頁，昭20
3. 戸田・阿武：結核，24巻，65~69頁，昭24

表5 V.K₃の実験(モルモット)結核に及ぼす影響2)臓器よりの培養成績総括

