

原 著

喀痰内結核菌のストレプトマイシン耐性の 定量的表示について

國立東京第一病院(院長 坂口康藏博士)

小 酒 井 望

1 緒 言

ストレプトマイシン(以下「ス」と略す)治療を行う事によつて、結核菌の「ス」耐性が增加する事に就ては、既に幾多の報告がある。(1)(2)(3)(4)(5)ところで耐性が増加したと云われる患者の痰、その他材料中には、耐性菌のみではなく、感受性菌も混在していることは、Williston 等(6)、も指摘し、私も報告した(7)。一般に廣く行われている耐性の測定法は、一度分離した菌を、「ス」を種々の濃度に含んだ Tween- アルブミン培地、Kirchner 培地、或は Herrold 培地等で培養し、一定日数(2~3週)後に発育を認めた最高濃度を以て耐性を表すのであるが、感受性菌に耐性菌が一定量以上混じていると、一定日数後にはその耐性菌の発育し得る所迄発育が認められる。Wolinsky 等(1)は Tween- アルブミン培地及び Kirchner 培地を用いて測定し、感受性菌に 1,000 γ 以上の耐性菌が 0.1% 以上混じていると、2 週間後の判定では 1,000 γ 以上と云う結果を得ると報告している。此の場合全部の菌が耐性菌でも、0.1% のみが耐性菌で他は感受性菌であっても、>1,000 γ の耐性と表されるわけである。然しこの二つの場合で、臨床上の意義は違ふと思う。従つてかかる場合、耐性菌が何%と表すのが合理的であろう。私は固形培地を用い定量培養法(小川)を應用して、喀痰内の結核菌の「ス」耐性を定量的に表わそうと考えた。

2 方 法

(1) 培地

次の様な変法占部山田培地を用いた。

基礎培地 (pH 7.0)	Na ₂ HPO ₄ · 12 H ₂ O	6.3 g
	KH ₂ PO ₄	2.5 g
	味の素	6 g
	グリセリン	20 cc
	馬れいしよ浸出液	80 cc
	牛 乳	80 cc
	寒 天 蒸溜水	24 g 500 cc

100 cc づつ分注、3 回間歇滅菌、保存した。

培地作製に当つては、基礎培地を溶解し、60°C となつた時、卵黄 1 個 (20 cc 前後) と目的濃度の 100 倍の濃度の「ス」液 (1/100 モル磷酸塩緩衝液 (pH 7.0) に溶解) 1.2 cc を加え、よく混和し、約 6 cc づつ中試験管に分注、斜面に凝固させた。

培地の「ス」濃度の段階は、1,000, 500, 200, 100, 50, 20, 10 γ /cc とした。10 γ /cc 以上の培地を用いたのは、多くの報告で 10 γ /cc 以上の濃度で発育を認めた場合を、耐性が増加したとしており、又私が実験した「ス」治療を受けた事のない患者の結核菌 40 株は、いずれも 5 γ /cc に発育を認めなかつたので、私の用いた培地で 10 γ /cc 以上に発育した場合、耐性が増加したと考えて差支えないと思うからである。

(1) 接種材料の作り方

喀痰は塗抹で菌の証明されるものを使用した。先づ一定量(約 2 cc)の痰を、硝子玉を数個入れた滅菌大試験管に入れ、しばらく振りついで 4 倍量の 5% 硫酸水を少量づつ注加してよく振り均質化する(この間 30 分)。これを洗降管に移し、3,000 回轉 20 分遠心沈澱し、上清をすて、沈渣

に 1 N-NaOH 渣を少量加え、ほぼ中性とし、大量の滅菌生理的食塩水(以下食塩水と略す)を加え、よく混和し、再び 3,000 回轉 30 分遠沈、もう一度食塩水で洗い、沈渣に食塩水を加えて、硫酸水を加えた時の量に戻し、それを別の硝子玉入滅菌大試験管に入れ、よく振り、均等の浮游液を作る。即ち略痰の 5 倍稀釈液が出来たわけである。これを原液とする。或は、よく洗つた沈渣に食塩水を加える場合、この実験の目的は、痰中の菌数を求めるのではなくて、耐性菌と感受性菌の割合を求めるのであるから、もとの量に戻さないで、痰の中の菌の多少によつて、適当量の食塩水を加えて浮游液を作りそれを原液とした。

この原液を暫く室温におき、上清を食塩水で稀釈し、10 倍、100 倍、1,000 倍液を作り、その 0.1 cc づつを「ス」含有培地 1 本に接種した。培地は同一濃度のものを 4 本以上使用した(培養中にかなり雑菌が混入発育するからである)。接種した培地は 37°C に 1, 2 日おき、余分の水分が蒸発してから管口を封じた。

(2) 結果の判定

37°C 30 日迄観察し、各「ス」濃度の培地に発生した集落数を、かぞえ得る稀釈倍数のをかぞえ、原液中の菌数を計算した。

3 結 果

第 1 表は「ス」を毎日 1g づつ 40g 使用した患者の「ス」治療終了 4 月後の痰であるが、培養日数 26 日でも 33 日でも成績に大差はない。33 日の成績では、痰 0.1 cc 中の菌数は 30,000 で、その中 10 γ 以上の耐性菌は 25, 50 γ 以上の耐性菌は 10 個となる。即ち痰中の耐性菌は 1/1,000 程度である。

第 2 表は同じく「ス」を毎日 1g、計 40g 使用した患者の「ス」治療終了半年後の痰であるが、培養 3 週間では成績の判定は困難である。4 週間の成績では原液 0.1 cc 中の菌数は 16,000 で、その中 10 γ 以上の耐性菌が 500, 50 γ 以上の耐性菌は 0.3 となる。即ち痰中の耐性菌は 3/100 程度である。

次に 8 名の「ス」治療を受けた患者について、

第 1 表 矢 島(早)

培養日数	稀釈倍数	培地の「ス」濃度 (γ /cc)		
		0	10	50
26	5		10 2 0	5 0 0
	50	+		
	500	75 45		
33	5		10 4 0	6 0 0
	50	+		
	500	75 45		
痰 0.1 cc 中の菌数		30,000	25	10

第 2 表 戸 倉(合)

培養日数	稀釈倍数	培地の「ス」濃度 (γ /cc)		
		0	10	50
19	原液		+	0 0 0
	10 ⁻¹	+		0 0
	10 ⁻²	149 140	0 0	
	10 ⁻³	16 10		
23	原液		+	1 0 0
	10 ⁻¹	+		0 0
	10 ⁻²	170 150	5 5	
	10 ⁻³	16 15		
原液 0.1 cc 中の菌数		16,000	500	0.3

その略痰内の菌の「ス」耐性を定量的に表すと第 3 表となる。いずれも「ス」治療終了後 1 月乃至 7 月を経ている。内 3 名は時期を異にして 2 回づつ行つた。これは「ス」を含まぬ培地に発育した集落数を 1,000 として耐性菌の集落数を表してある。いずれも耐性菌は 1,000 の中数個乃至 10 個で、1 例だけは 100 個以上である。

表中右側の普通の測定法による耐性とは、定量培養した痰の一部を、硫酸処置して岡・片倉培地に濃厚に塗抹し、一面に発生した菌苔を、出来るだけ沢山掻き取り、1 cc 約 10 mg の菌液を作り、

第 3 表

患者名*	「ス」使用量 (g)	培地の「ス」濃度 (γ/cc)							普通の測定法による「ス」耐性 (γ/cc)
		0	10	20	50	100	200	1,000	
■■■■(♂)	40	1,000	30		0.02				20
■■■■(♀)	40	1,000	1		0.3				50
■■■■(♀)	40	1,000	2		0				10
■■■■(♂)	62	1,000		1					20
■■■■(♀)	50	1,000					220	0	500
■■■■(♂)	40	1,000	40		0				20
		1,000	16		0				
■■■■(♂)	22	1,000	40		30				>1,000
		1,000	30						
■■■■(♀)	40	1,000		4	8	8			>1,000
		1,000	6				6		

その 0.1 cc を「ス」含有培地に接種、2 週間後に発育を認めた最高濃度を示してある。

次に、私の変法占部・山田培地を用いて、感受性菌に耐性菌を混じて、耐性の現れ方を測定すると、上記 Wolinsky 等の報告の如く、培養 2 週間の成績では、0.1% に >1,000 の耐性菌が混在すれば、耐性 >1,000 となる (第 4 表)。これは大体第 3 表の結果と一致している。使用菌株の感受性株は仲井治療前 (2.5 r) 株、耐性株は仲井治療後 (>1,000 r) 株の 1,000 r/cc の培地に発育したものをを用いた。

4 考 按

以上私の述べた方法は、痰の中の結核菌数がかなり多くなければ行い得ない。菌数の少ない場合は、分離培地上に発育した集落個々を、再び増菌し、それから耐性を測定し、感受性菌と耐性菌の割合を出せばよい。私は解剖屍体の各種臓器から分離した菌については、此の様な方法で同一臓器中の菌個々の耐性の差を測定している。勿論菌数の多い喀痰、その他材料でも、上述の定量培養法を用いなくて、集落が孤立して発育する様に、材料を適当に稀釈して分離培地に接種し、生じた集

第 4 表

感受性株に対する耐性株の割合 (%)	培地 I 本宛接種菌量 (mg) 上段感受性株 下段耐性株	培地の「ス」濃度 (γ/cc)		
		0	100	1,000
1	1 0.01	卍		卍 卍
0.1	1 0.001	卍	卍 +	卍 +
0.01	1 0.0001	卍	+	-

成績判定は 37°C 2 週間後

一は発育を認められぬこと、+卍卍は発育の程度を示す

落個々を再び増菌して耐性を測定してもよいが、これは非常な労力を費し、且つ結果の出る迄にかなりの日数を要する。

普通の耐性測定法で、耐性 >1,000 と出ても、その中に感受性菌が混在することは第 3 表の湯沢、高橋の例に見られる所である。浜口等⁽⁸⁾は、この高橋に更に「ス」を使用して、症状の軽快を認め、それは「ス」耐性菌の外に感受性菌が多く存在するからであろうと報告している。

「ス」治療によつて耐性 >1,000 r となつたとい

つても、殆どすべての菌が $>1,000\gamma$ である場合と、極く一部だけが耐性菌で、大部分が感受性菌であるのでは、更に「ス」治療を続行するか否かを定める上に於て、臨床上の意味が相違するであろう。従つて私は感受性菌と耐性菌の割合を表す、即ち菌の「ス」耐性を定量的に表示するのが、「ス」治療を受けた患者の菌の耐性の表し方として合理的であると考えらる。

5 結 論

(1) 「ス」治療を受け、菌の「ス」耐性が増加したと云われる患者の喀痰内結核菌の「ス」耐性は一様ではなく、耐性菌に感受性菌が混じている。

(2) 従つて喀痰の結核菌の「ス」耐性は定量的表示、換言すれば、感受性菌と耐性菌の割合を示すのが合理的で、それには定量培養法(小川)

を適用すればよい。

終に種々御援助を得た松本房子女史に感謝する。

(本研究は文部省科学試験研究費によつた)

文 献

- (1) Wolinsky et al. Am. Rev. Tuberc., Vol. 58, 335, 1948.
- (2) Bernstein et al. Am. Rev. Tuberc., Vol. 58, 344, 1948.
- (3) Swift et al. J. Immunology, Vol. 62, 117, 1949.
- (4) Tucker Am. Rev. Tuberc., Vol. 60, 715, 1949.
- (5) 小酒井. 日本医事新報掲載予定
- (6) Williston et al. Am. Rev. Tuberc., Vol. 59, 336, 1949.
- (7) 小酒井. 医療掲載予定
- (8) 浜口等 日本医事新報掲載予定

日本BCG研究協議会について

昨年五月乾燥 BCG ワクチンの大量生産開始以來、当初予期しなかつた技術上の困難に逢着しつゝ約一年を経過したが、速かに大量生産技術を確立して品質の向上を図るために今回、BCG の研究並びにワクチンの製造に従事するものが中心になつて日本 BCG 研究協議会を結成した。

本協議会は柳沢謙博士を委員長とし事務所を結核予防会内に置いてあるが

(一) 乾燥 BCG ワクチンの大量生産技術の改良

(二) 乾燥 BCG ワクチンの検定方法の改良を差当りの研究テーマとし、本年度は主として文部省の補助金と結核予防会の財政的援助によつて運営される。

委員の顔振れは下記の通りである。

日本BCG研究協議会委員

所 属	氏 名	所 属	氏 名
国立予防衛生研究所	柳 沢 謙	大阪大学医学部	河 盛 勇 造
同 右	室 橋 豊 穂	九州大学医学部	戸 田 忠 雄
公衆衛生院	曾 田 長 宗	抗酸菌病研究所	海 老 名 敏 明
同 右	染 谷 四 郎	財團法人結核予防会	隈 部 英 雄
厚生省予防課	小 川 朝 吉	同 右	大 林 容 二
同 右	小 谷 新 太 郎	同 右	小 池 昌 四 郎
厚生省研究所課	軽 部 彌 生 一	同 右	田 中 正 一 郎
厚生省細菌製剤課	加 藤 英 市	同 右	山 田 正 次

結核菌の培養に関する研究

(第1報) 喀痰中の結核菌分離培養における硫酸、苛性曹達

及び第三磷酸曹達、各前処理法の比較について

国立公衆衛生院衛生微生物学部(部長 染谷四郎)

国立予防衛生研究所結核部(部長 柳沢 謙)

林 久 子

緒 言

結核患者の喀痰中の結核菌の有無は、患者の病巣の変化を推察する際の重要な指針となり、また公衆衛生の立場から見る時、より重要な意味を含んでいる。現在培養法による結核菌検査においては、一般に固形培地を使用する方法が用いられているが、保健所・病院等、多数の材料を取扱う所では、出来る限り培地の製法、培養手技が簡単で、然も培養能率の高度のものが望まれるのは当然である。しかしながら現在用いられている培地及び前処理法については、更に検討されなければならないところが多く、また喀痰の保存という立場から見ると、最近 Corper, Stoner⁽¹⁾ Vranken⁽²⁾ 等によつて提唱されている第三磷酸曹達処理法もその成績の如何によつては利用され得るものであり、公衆衛生作業上資する所が多いものと考えられる。そこで著者は現在最も廣く用いられている硫酸前処理法・苛性曹達前処理法、及び第三磷酸曹達前処理法の比較実験を試み、更に各前処理法における培地の水素イオン濃度と培養成績との関係について検討した。ここにその成績を報告する。

実 験 方 法

1) 喀痰の取扱方

喀痰よりの培養成績の比較を研究する場合先ず第一に考慮しなければならないことは、喀痰中の結核菌が均等に分布されるようにしてこれを材料とすることである。その目的のために著者は次のような方法を用いた。すなわち Gaffky II~V号

の喀痰を滅菌乳鉢に採り、予め滅菌した金剛砂を適当量加えつつ約5分間静かに研磨してよく混和し、均等な喀痰を作つた。しかしこの方法で培養試験を行うと、培地面にある金剛砂の粒子が小さい結核菌集落と見誤れるおそれがあるので、滅菌乳鉢に喀痰を入れ氷結させて研磨する方法を用いた。この方法の場合は、培養の際 0.1cc 宛注流したので菌数があまりに多過ぎるため、Gauffky II~V号の喀痰に Gauffky 陰性の喀痰を約10倍量混和し、氷結研磨することを繰返して均等な材料を作つた。

2) 各前処理法

a) 硫酸法

4%硫酸溶液を滅菌して使用した。上記の方法によつて作つた材料を数等分した喀痰の1つに4%硫酸溶液を5倍量加え、攪拌して30分間室温に放置した後、金剛砂を用いて研磨したものは1分間3,000回轉を以て10分間遠心沈澱し、上清を捨てて沈渣を培養に供した。氷結研磨した喀痰においては、30分間室温に放置した後、更に10分間室温に置き培養に供した。

b) 苛性曹達法

4%苛性曹達溶液を滅菌し使用した。材料に4%苛性曹達溶液を等量加え、室温で3分間攪拌した後、金剛砂を用いて均等にした材料では直ちに1分間3,000回轉を以て10分間遠心沈澱し、上清を捨てて沈渣を培養に供した。氷結研磨した喀痰においては更に10分間室温に置き培養に供した。

c) 第三磷酸曹達法

23% 第三磷酸曹達溶液 ($\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) を滅菌して使用した。材料に23% 第三磷酸曹達溶液

を等量加え、攪拌して 24 時間 37°C の孵卵器中に置いた後、金剛砂を用いて均等にしたものでは 1 分間 3,000 回転を以て 10 分間遠心沈澱し、上清を捨てて沈渣を培養に供し、また水結研磨した材料においては、更に 10 分間室温に置いて培養に供した。

3) 使用培地

a) 岡片倉培地

第一磷酸加里	0.5 g
第二磷酸曹達	0.5 "
グルタミン酸曹達	1.0 "
蒸留水	100 cc

上記混合液を 100°C 30 分間加熱溶解し、この原液 100 cc にグリセリン 6.0 cc, 2% マラカイト緑 6.0 cc, 全卵液 200 cc を加え、3 回凝固滅菌した。

b) 水素イオン濃度を異にする培地

第 9 表に従つて第一磷酸加里、第二磷酸曹達、及び両者混合液を作り夫々グルタミン酸曹達、グリセリン、マラカイト緑、卵液を岡片倉培地に準じて混和し、血清凝固器で凝固滅菌した。

4) 培養方法

金剛砂を加えて均等にした材料の沈渣を培養する時は 10 本の培地斜面に夫々 1 白金耳宛塗抹した。37°C の孵卵器内に 24 時間横位に保つた後パラフィンで綿栓を密閉し 37°C 孵卵器内に培養した。

水結研磨して前処理を行つた場合の硫酸処理の場合にはそのまま 0.1 cc 宛 10 本の培地斜面に注流し、苛性曹達、第三磷酸曹達処理のものでは硫酸処理法と等しく稀釈するために更に 4 倍量の各処理液を加えて、0.1 cc 宛 10 本の培地斜面に注流して 37°C の孵卵器に横位に納め、約 5 日後パラフィンで綿栓を密閉して更に 37°C の孵卵器内に培養した。

5) 観察方法

集落を発見するまでに要する日数に注意し、集落発見までは出来る限り毎日培養基面を観察した。記載方法は、+151~200 #201~250 #251~300 #301~350 #351~400 ∞ 集落が互に融合したもの、C 雑菌混入を認めたものとした。また

集落が比較的少いものは実数を以て表した。初期の集落の発育の過程は、観察の表現が主観的に傾き、実験成績に誤差を招くのを虞れて正確に集落数を表わす事が出来るまでは総て土を以て示すこととした。

実験成績

1) 予備実験

第 1~4 表(省略)によつて明らかなように、上記の 2 つの方法によつて均等にした喀痰を 2 分し、その各々について硫酸処理法を行い培養を行つたが各群の培養成績は殆ど差異が認められなかつた。すなわち、上記の方法によつて等分された材料の各群の結核菌の分布は略等しいものと思われる。

2) 岡片倉培地を使用した場合の前処理法の比較実験

第 1 実験では第 5 表に示すように 4% 硫酸法が

第 5 表 岡片倉培地における 4% 硫酸法、4% 苛性曹達法及び 23% 第三磷酸曹達法の比較(第 1 実験)

4% 硫酸法による成績

培養日数	試験管番号									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
15日	±	±	±	0	±	±	±	0	±	±
16日	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
19日	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###
22日	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###
23日	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###
31日	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###

4% 苛性曹達法による成績

培養日数	試験管番号									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
15日	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16日	±	±	±	±	0	±	0	0	0	0
19日	##	##	##	+	+	##	+	+	+	+
22日	###	###	##	##	+	##	+	+	+	+
23日	###	###	##	##	##	##	+	+	##	+
31日	###	##	##	##	##	##	+	+	##	+

23%第三磷酸曹達法による成績

培養日数	試験管番号									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
15日	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16日	±	±	±	±	±	±	±	±	0	±
19日	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
22日	卅	卅	+	+	卅	+	+	+	+	+
23日	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+
31日	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅

優れているが、4%苛性曹達法と23%第三磷酸曹達法を比較すると殆ど優劣を決し難く、ただ4%苛性曹達法の成績では、各試験管の成績が不揃であつた。第2実験では第6表に示すようにこれら

第6表 岡片倉培地における4%硫酸法、4%苛性曹達法及び23%第三磷酸曹達法の比較(第2実験)

4%硫酸法による成績

培養日数	試験管番号									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
14日	±	±	±	±	±	±	±	0	0	0
16日	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
17日	+	卅	+	卅	+	+	+	+	+	+
18日	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	+
20日	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	+
32日	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅

4%苛性曹達法による成績

培養日数	試験管地号									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
14日	±	±	±	±	0	0	±	±	0	±
16日	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
17日	+	+	+	+	+	卅	+	+	+	卅
18日	卅	+	+	卅	+	卅	+	+	卅	卅
20日	卅	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
32日	卅	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅

3処理法の成績に殆ど差異が認められず、第3実験では第7表に示すように第三磷酸曹達法が4%

23%第三磷酸曹達法による成績

培養日数	試験管番号									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
14日	±	0	0	±	±	0	±	0	0	0
16日	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
17日	+	卅	+	卅	+	+	+	+	+	+
18日	+	卅	卅	卅	+	卅	+	+	+	卅
20日	+	卅	卅	卅	卅	卅	+	卅	+	卅
32日	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅

第7表 岡片倉培地における4%苛性曹達法及び23%第三磷酸曹達法の比較(第3実験)

4%苛性曹達法による成績

培養日数	試験管番号									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
15日	±	±	±	±	±	0	0	0	±	0
16日	±	±	±	±	±	±	±	0	±	0
19日	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
22日	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
25日	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
28日	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
31日	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅

23%第三磷酸曹達法による成績

培養日数	試験管番号									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
15日	0	0	±	0	0	±	0	0	±	0
16日	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
19日	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
22日	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
25日	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
28日	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
31日	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅

第8表 岡片倉培地における4%硫酸法及び23%第三磷酸曹達法の比較 (第4実験)

4%硫酸法による成績

培養日数	試験管番号									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
13日	±	±	±	0	0	±	±	±	±	±
15日	±	C	±	±	±	±	±	±	±	±
19日	±	C	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
22日	C	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
28日	C	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
31日	C	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊

23%第三磷酸曹達法による成績

培養日数	試験管番号									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
13日	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18日	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
19日	冊	冊	+	+	+	+	+	+	+	冊
22日	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
28日	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
31日	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊

苛性曹達法より稍々優れ、第4実験においては第8表に示すように4%硫酸法が集落発生のお早さにおいて23%第三磷酸曹達法に優れるが、4週以後の集落数に関しては両者間に殆ど差が認められなかつた。すなわち、岡片倉培地を使用した実験では、硫酸処理法が最も優れ、次いで第三磷酸曹達処理法が、苛性曹達処理法に稍々優れているが、明らかな優劣を認める事は出来なかつた。

雑菌混入の程度を見ると、第5~8表を通じて4%硫酸法及び4%苛性曹達法は各30本中1本、23%第三磷酸曹達法は、40本中皆無であつた。

3) 異つた水素イオン濃度の培地を使用して行つた実験

第1実験では第10表に示すように4%硫酸法の成績では、pH 約 5.9 の培地が稍成績が劣るが、他の pH の培地間には殆ど成績に差異がなく、

4%苛性曹達法に於ては pH 5.9 の培地が最も優れ、pH 6.8 7.2 培地は順次に成績が劣るのが認められた。23%第三磷酸曹達法においては pH 5.9 培地が優れ、pH 6.5 6.6 培地が稍々劣り、pH 7.0 7.2 培地が順次劣つた成績を示した。第2実験においては第11表に示すように4%硫酸法は pH 6.9 7.0 7.2 培地に殆ど同程度優れた成績を認め、pH 6.6, 6.5 培地は劣つていた。23%第三磷酸曹達法では pH 6.5, 6.6, 6.9 培地が同様の成績で優れ、pH 7.0, 7.2 培地は順次に劣つていた。第3実験においては、第12表に示すように4%苛性曹達法では pH 5.9 培地が優れ、pH 5.6, 6.5 6.6 培地がこれに次ぎ、pH 6.9, 7.0, 7.2 培地は非常に劣つた成績を示した。23%第三磷酸曹達法においても pH 5.9, 6.5, 6.6 培地に優れた成績を認め、pH 5.6 培地がこれに次ぎ、pH 6.9, 7.0, 7.2 培地は順次著しく劣つた成績を示した。雑菌の混入は、4%硫酸法では110本中皆無、4%苛性曹達法では140本中2本、23%第三磷酸曹達法では190本中3本であつた。

また何れの処理法においても pH 6.5 以下の pH の培地においては一般に集落が小さく、高く成長し、集落が硬い。高い pH の培地においては集落の面積が大きく不規則に周囲に広がる傾向が認められ、集落は低くて脆弱であつた。

第9表 各培地における第一磷酸加里、第二磷酸曹達の量、及び培地凝固水の pH

100 cc 中の第一磷酸加里	100 cc 中の第二磷酸曹達	培地凝固水の pH
5.0 g	0	約 5.6
3.0 "	0	" 5.9
1.0 "	0	" 6.5
0.9 "	0.1 g	" 6.6
0.5 "	0.5 "	" 6.9
0.3 "	0.7 "	" 7.0
0	1.0 "	" 7.2
0	3.0 "	" 7.4

第10表 異なる pH の培地における4%硫酸法、4%苛性曹達法及び23%第三磷酸曹達法の比較(第1実験)

4%硫酸法による成績

培地 pH	培養日数	試 験 管 番 号									
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
5.9	12日	-	±	±	±	±	±	±	±	±	-
	14〃	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	21〃	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡
	28〃	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡
6.5	12〃	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	14〃	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	21〃	≡	≡	∞	∞	∞	≡	∞	∞	∞	∞
	28〃	≡	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
6.6	12〃	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	14〃	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	21〃	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	28〃	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
6.9	12〃	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	14〃	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	21〃	≡	≡	≡	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	28〃	≡	≡	≡	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
7.0	12〃	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	14〃	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	21〃	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	28〃	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
7.2	12〃	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	14〃	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	21〃	∞	∞	∞	≡	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	28〃	∞	∞	∞	≡	∞	∞	∞	∞	∞	∞

4%苛性曹達法による成績

培地 pH	培養日数	試 験 管 番 号									
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
5.9	12日	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	14〃	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	21〃	∞	∞	∞	∞	冊	∞	冊	∞	∞	∞
	28〃	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
6.5	12〃	-	-	±	±	±	±	-	±	±	-
	14〃	±	±	±	±	±	+	+	+	+	+
	21〃	冊	冊	∞	∞	冊	∞	冊	冊	∞	冊
	28〃	∞	冊	∞	∞	∞	∞	∞	冊	∞	∞
6.6	12〃	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	14〃	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	21〃	∞	∞	∞	冊	∞	∞	∞	∞	冊	冊
	28〃	∞	∞	∞	冊	∞	∞	∞	∞	冊	冊
6.9	14〃	-	-	-	±	-	-	±	±	-	±
	18〃	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	21〃	+	冊	+	冊	+	+	+	+	冊	冊
	28〃	+	冊	冊	冊	+	冊	+	+	冊	冊
7.0	17〃	-	±	±	-	±	-	-	-C	-	±
	18〃	±	±	±	±	±	-	±	±C	-	±
	21〃	冊	+	冊	冊	+	+	260	6C	14C	+
	28〃	冊	+	冊	冊	+	+	270	C	14C	+
7.2	17〃	-	±	-	-	-	-	±	-	-	-
	18〃	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	21〃	246	104	267	57	135	241	120	+	189	21
	28〃	+	150	+	218	210	+	140	+	+	130

23%第三磷酸曹達法による成績

培地 pH	培養日数	試 験 管 番 号									
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
5.9	12日	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	14〃	±	±	±	±	±	±	±	±	±	+
	21〃	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	28〃	冊	冊	冊	冊	冊	冊C	冊	冊	冊	冊
6.5	12〃	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	14〃	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	21〃	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	28〃	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
6.6	12〃	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	14〃	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	21〃	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	28〃	冊	冊	冊	冊	冊	冊C	冊C	冊	冊	冊
6.9	14〃	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	17〃	+	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	21〃	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	28〃	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
7.0	14〃	-	-	-	-	±	±	±	±	±	±
	17〃	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	21〃	74	+	260	冊	+	冊	+	冊	冊	冊
	28〃	170	冊	+	冊	+	冊	冊	冊	冊	冊
7.2	18〃	±	±	±	-	±	-	±	±	±	-
	21〃	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	24〃	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	28〃	246	104	269	57	135	241	120	350	189	21

註：この表のみ集落数があまりに多かつたため、記載法を下記の如くにした。

- | | | | |
|---|---------|---|----------|
| + | 301~350 | 冊 | 451~500 |
| 冊 | 351~400 | 冊 | 501~600 |
| 冊 | 401~450 | ∞ | 集落隔合せるもの |

第11表 異なる pH の培地における4%硫酸法及び23%第三磷酸曹達法の比較(第2実験)

4%硫酸法による成績

培地 pH	培養日数	試 験 管 番 号									
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
6.5	12日	±	±	±	±	±	0	±	±	±	±
	14〃	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	16〃	244	271	343	336	194	284	239	274	307	450
	21〃	500	500	520	520	478	468	450	500	500	600
	23〃	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
6.6	12〃	±	±	±	0	±	±	±	±	±	±
	14〃	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	16〃	391	259	279	119	370	328	119	147	149	250
	21〃	500	500	520	352	550	550	318	232	414	700
	23〃	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
6.9	12〃	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	14〃	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	16〃	500	340	500	236	500	296	490	476	520	600
	21〃	∞	500	∞	390	∞	510	∞	550	600	∞
	23〃	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
7.0	12〃	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	14〃	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	16〃	500	478	505	550	500	500	270	450	400	420
	21〃	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	23〃	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
7.2	12〃	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	14〃	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	16〃	258	550	400	500	500	390	490	480	385	350
	21〃	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	23〃	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞

23%第三磷酸曹達法による成績

培地 pH	培養日数	試 験 管 番 号									
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
6.5	12日	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	14〃	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	16〃	170	126	118	214	177	172	201	240	124	170
	21〃	368	213	438	400	389	352	500	450	450	500
	28〃	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
6.6	12〃	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	14〃	±	+	±	±	±	±	±	±	±	±
	16〃	±	142	211	111	244	193	268	221	156	272
	21〃	9	230	250	230	300	300	330	350	250	330
	28〃	27	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
6.9	12〃	0	0	0	±	0	±	±	0	0	±
	14〃	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	16〃	82	122	90	102	71	110	87	100	148	113
	21〃	266	235	370	372	336	350	350	432	380	350
	28〃	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
7.0	12〃	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	14〃	0	±	0	0	±	±	±	0	0	±
	16〃	24	35	20	69	66	54	120	76	52	150
	21〃	139	185	137	227	161	227	286	231	203	359
	28〃	307	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
7.2	12〃	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	14〃	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	16〃	0	±	0	±	±	±	0	0	0	0
	21〃	94	71	0	±	70	19	±	0	0	0
	28〃	196	193	16	67	169	67	34	24	42	26

第12表 異なる pH の培地における4%苛性曹達法及び23%第三磷酸曹達法の比較(第3実験)

4%苛性曹達法による成績

培地 pH	培養日数	試 験 管 番 号									
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
5.6	13日	±	±	±	0	±	±	±	±	±	±
	15〃	307	140	230	134	210	195	213	304	184	170
	20〃	615	∞	638	578	530	687	730	684	562	∞
	27〃	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	33〃	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
5.9	13〃	±	±	±	±	±	0	±	±	±	±
	15〃	499	240	268	255	230	280	390	385	420	230
	20〃	∞	∞	569	∞	583	550	∞	∞	561	544
	27〃	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
6.5	13〃	±	±	±	0	0	±	±	0	0 C	0
	15〃	206	69	230	110	203	27	77	159	65 C	15
	20〃	529	352	473	476	489	378	360	571	588 C	302
	27〃	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	33〃	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
6.6	13〃	0	0	±	±	±	0	±	0	0	±
	15〃	74	44	70	135	121	50	110	207	62	39
	20〃	266	156	390	366	270	258	460	416	200	78
	27〃	∞	233	∞	∞	∞	∞	∞	∞	239	269
	33〃	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
6.9	13〃	0	±	0	0	0	0	0	±	±	0
	15〃	0	3	0	0	0	3	0	3	2	0
	20〃	0	3	0	0	0	5	0	4	4	0
	27〃	±	7	120	±	±	27	±	23	110	±
	33〃	13	10	127	40	167	99	42	91	249	15
7.0	13〃	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	15〃	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	20〃	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	27〃	1	±	±	0	0	0	0	±	0	1
	33〃	32	11	51	8	9	6	30	29	47	4
7.2	13〃	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	15〃	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20〃	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	27〃	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	33〃	0	0	0 C	0	±	7	0	0	0	0
7.4	13〃	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	15〃	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20〃	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	27〃	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	33〃	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0

23%第三磷酸曹達法による成績

培地 pH	培養日数	試 験 管 番 号									
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
6.6	13日	0	0	0	0	±	0	0	0	0	0
	15〃	2	7C	4	9	9	27	23	28	20	16
	20〃	147	178C	169	219	129C	173	176	201	202	131
	27〃	222	179C	215	265	134C	232	233	260	220	191
	33〃	∞	182C	233	298	154C	242	234	269	∞	209
5.9	13〃	±	0	0	±	0	±	0	±	0	0
	15〃	23	55	43	64	18	8	8	40	21	30
	20〃	154	224	166	208	179	203	189	222	120	241
	27〃	188	252	202	236	230	235	225	240	192	271
	33〃	211	260	215	246	240	∞	∞	260	194	275
6.5	13〃	±	±	±	±	±	±	0	±	±	±
	15〃	3	15	110	18	15	36	87	110	77	34
	20〃	171	122	244	109	237	203	245	237	184	156
	27〃	248	171	331	193	304	297	323	280	217	211
	33〃	281	177	340	276	317	∞	330	317	318	∞
6.6	13〃	±	±	±	±	±	±	±	±	0	±
	15〃	104	108	120	41	99	130	60	116	10	211
	20〃	160	206	268	279	232	299	212	266	76	276
	27〃	239	283	276	301	298	335	244	284	243	293
	33〃	266	235	320	342	312	∞	254	∞	∞	311
6.9	13〃	0	0	0	0	±	±	0	±	0	±
	15〃	0	0	0	0	3	6	0	5	0	8
	20〃	0	0	0	0	50	18	0	20	0	77
	27〃	18	±	105	72	133	87	±	137	28	153
	33〃	19	22	105	77	149	88	62	139	68	162
7.0	13〃	0	0	0	0	0	±	0C	0	0	0
	15〃	0	0	0	0	0	8	0C	0	0	2
	20〃	0	0	0	0	1	13	0C	0	0	6
	27〃	19	30	±	37	19	30	0C	31	±	68
	33〃	41	55	2	59	44	67	0C	43	28	117
7.2	13〃	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	15〃	0	0	0	3	1	0	0	1	0	0
	20〃	0	0	0	6	5	0	0	2	0	0
	27〃	0	0	0	6	6	±	0	C	0	0
	33〃	0	0	0	6	6	1	0	C	±	±
7.4	13〃	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	15〃	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	20〃	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	27〃	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	33〃	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0

総括及び考按

Gaffky II~V 号の均等化された喀痰を 4% 硫酸法、4% 苛性曹達法、23% 第三磷酸曹達法の各前処理法を用いて分離培養を比較した。すなわち、岡片倉培地を使用した実験では 4% 硫酸法が稍々優れている傾向が認められた。

異なる水素イオン濃度の培地を用いた実験では 4% 硫酸法で処理を行つた成績は pH 6.9 7.0 7.2 培地が共に優れ、岡、片倉、石川⁽³⁾等は pH 6.4 より pH 7.3 までの培地を用いて 4% 硫酸溶液を以て処理する場合、pH 6.9 の培地が最も成績が良いと報告しているが、著者の実験においても同様の傾向を認めた。4% 苛性曹達法に於ては pH 5.6~6.6 培地によく発育し、殊に pH 5.9 培地における培養成績が最も優れ、pH が高くなるに従い培養成績が劣つていた。4% 硫酸法、4% 苛性曹達法は適当な水素イオン濃度の培地においては殆ど両者の成績に優劣を認めることが出来なかつた。23% 第三磷酸曹達法においては pH 5.9~6.6 が最も良い成績を示し、pH 5.6 培地では稍々劣り、pH 6.9~7.2 培地になると相当劣つた成績を示した。第三磷酸曹達法を他の処理法に比較すると、最適の水素イオン濃度の培地においても他の処理法に較べて多少の遜色を認めた。また各前処理法を通じて培地の水素イオン濃度は集落の形態に影響を與えることが認められた。すなわち、pH 6.5 以下の低い pH の培地においては集落は小さく、高く発育し、硬いが、高い pH の培地では集落は低く、大きく、不規則に発育し、脆弱であつた。

結核菌の分離培養に用いられる固形培地の優劣を左右する条件として先ずその培地が結核菌の発育に影響を與える栄養素、発育促進物質が考えられるが、組成が大體同様である固形培地の間においては、培地の水素イオン濃度が菌の発育に與える影響は極めて大きいことが想像される。岡等は前処理に使用した硫酸濃度と培地の水素イオン濃度の間に関係のあることを認め、小川⁽⁴⁾は 1%~4% の第一磷酸加里及び第一磷酸曹達を加えた鶏卵培地に 1%~4% 苛性曹達水を用いて処理した喀痰及び結核菌浮游液を培養し、又第二磷酸曹

達を 1%~3% 加えた鶏卵培地に 1%~4% 硫酸水で処理した喀痰及び菌浮游液を培養して夫々磷酸塩の量と前処理液の濃度との間に関係のあることを認め、培地の水素イオン濃度の影響のあることを報告している。上記の実験において異つた前処理法の比較においても培地の水素イオン濃度が相当大きい影響を及ぼすことが明らかである。先に廣木⁽⁵⁾は 5% 硫酸処理によつて Löwenstein, Petroff, Petragnani Hohn 培地を比較して Petragnani が最も優れ、Löwenstein がそれに次ぐと記し、植田⁽⁶⁾によると 5% 硫酸処理において Petroff, Petragnani, Hohn, Löwenstein, Horrold, Lubenau 培地を比較して、Löwenstein, Petroff が優れるとし、和田⁽⁷⁾ は同処理を行つた後食塩水を以て洗滌した沈渣について培養をした場合、Löwenstein 培地は Petragnani 培地に劣ると報告しているが、これ等の成績における各培地の優劣を起している原因は前処理の方法、喀痰の化学的性状以外に培地の水素イオン濃度の影響をも考慮する必要があるものと考えられる。

結 論

- 1) 結核菌の分離培養に当り、前処理法の優劣はその際使用する固形培地の水素イオン濃度により影響を受ける。
- 2) 4% 硫酸処理法における固形培地の至適水素イオン濃度は pH 6.9~7.2 である。
- 3) 4% 苛性曹達処理法における固形培地の至適水素イオン濃度は約 pH 5.9 である。
- 4) 23% 第三磷酸曹達処理法における固形培地の至適水素イオン濃度は pH 5.9~6.6 である。

稿を終るに臨み、御指導を賜つた公衆衛生院微生物学部、染谷博士並びに予防衛生研究所結核部、柳沢博士に深謝する。

主 要 文 献

- 1) H.J. Corper and R.E. Stoner: J. Lab. & Clin. med, 31: 1364-1371, 1946.
- 2) Majorie Van Vranken: Am Rev. tbc, 55: 374-378 1947.
- 3) 岡捨己, 片倉考, 石川養哲: 東北医学雑誌, 21: 692, 12.

成人肺結核症 シューブに関する研究

(2) 各臓器における血行性播種に関する研究

九大医学部第三内科教室(指導 沢田教授、貝田助教授)

茅 嶋 孝

(本論文の要旨は第 24 回結核病学会総会に於いて報告した。)

1 緒 言

二次結核症の病変の多くは、遂進(Schub)と静止期(Intervall)とを繰り返して悪化して行く事は既に臨牀上注目された事である。然し乍らシューブの本態に関しては、或いは⁽¹⁾管内性轉移であると云い、或いは⁽²⁾病巣周囲炎と云うも未だ明らかではない。元來シューブと云うのは單に臨牀的な概念に過ぎない。従つて管内性轉移は勿論、血行性轉移や、被包された静止乾酪化巣が何かの機会に洞化する場合も、病巣周囲炎も亦シューブと考えられる。⁽³⁾⁽⁴⁾戦後に於ける我が國結核の現状が、青少年の発病死亡数が稍々減退の兆があるのに反して、中年以後特に既往に於いて結核に罹

り殆んど治癒を示していた者が、いわゆるシューブを來たし、或いは粟粒結核症を起し、或いは結核性脳膜炎を発病した例が多い。私はこの点より血行性播種について臨牀上並びに病理組織学的に研究して來たのでここに報告する。

2 研究方法及び研究材料

第一章に同じ。

3 研究成績

第一章で述べた様に、剖検で肺結核を確認した40例の臨牀経過は第1表に示す通りである。この40例の症例の中何れかの臓器に血行性播種巣を認めたものは35例で、その主なものは脾臓の

第 1 表

番号	姓 名 年齢	臨 牀 診 断	既 往 症 (死亡前年月)	経 過
1	56	粟粒結核症 右滲出性肋膜炎 両膝関節ロイマチ	両膝関節ロイマチ (35~36年)	6ヶ月
2	34	粟粒結核症	妊 (6ヶ月) 娠	3ヶ月
3	32	結核性脳膜炎 粟粒結核症	左滲出性肋膜炎 (3年)	3ヶ月20日
4	27	粟粒結核症	人 工 流 産 (3ヶ月)	1ヶ月17日
5	27	結核性脳膜炎 粟粒結核症		26日
6	22	結核性脳膜炎	右滲出性肋膜炎(2年5ヶ月) 左滲出性肋膜炎(1年5ヶ月)	23日
7	37	肝 硬 変 症	右 肺 浸 潤 (15年)	2ヶ月
8	22	結核性頸部リンパ腺炎 肺 結 核		6ヶ月

9	27	腸 肺 結 核 症	右滲出性肋膜炎 (1年)	11ヶ月
10	51	左 腎 結 核 症	右滲出性肋膜炎(2年 1ヶ月) 左腎摘出(2ヶ月)	1年1ヶ月
11	18	腸 肺 結 核 症		3ヶ月
12	23	右 肺 結 核 症		10ヶ月
13	25	喉 頭 結 核 症	両滲出性肋膜炎(2年)	1年
14	23	両 肺 結 核 症	左滲出性肋膜炎(4年)	9ヶ月
15	52	喉 頭 結 核 症		1年10ヶ月
16	22	脊 椎 カ リ エ ス 症		1年8ヶ月
17	24	肺 腸 結 核 症	人工流産(1年)	11ヶ月
18	27	結 核 性 脳 膜 炎		4ヶ月10日
19	29	両 腸 結 核 症		8ヶ月
20	26	左 肺 結 核 症		1年7ヶ月
21		結 核 性 脳 膜 炎	左側滲出性肋膜炎 腹膜炎、粟粒結核症(2 年半)	52日
22	29	両 腸 結 核 症	右肺浸潤(2年1ヶ月) 右滲出性肋膜炎(5ヶ月)	10ヶ月15日
23	18	腸 肺 結 核 症	結核性両足背骨髄炎 (2年)	10ヶ月
24	24	右 乾 酪 性 肺 炎		4ヶ月10日
25	24	腸 肺 結 核 症	右滲出性肋膜炎(2年 8ヶ月)	2年1ヶ月
26	49	両 肺 結 核 症		11ヶ月
27	26	粟 粒 結 核 症	右滲出性肋膜炎(3年)	1年4ヶ月
28	34	肺 腸 喉 頭 結 核 症	右滲出性肋膜炎(10年) 左滲出性肋膜炎(4年)	10ヶ月
29	21	肺 結 核 症		1年7ヶ月
30	31	両 肺 結 核 症		1年2ヶ月
31	31	肺 腸 結 核 症	右滲出性肋膜炎(6年)	8ヶ月

32	██████████ 29	肺 結 核 症 喉 頭 結 核		2 ヶ 月
33	██████████ 46	両 肺 結 核 症	肺 浸 潤(5年)	3 ヶ月20日
34	██████████ 23	肺 結 核 症 腸 喉 頭 結 核		5 ヶ 月
35	██████████ 19	両 肺 結 核 症 喉 頭 結 核	左 乾 性 肋 膜炎(4年)	1年5ヶ月
36	██████████ 26	両 肺 結 核 症		1年
37	██████████ 26	両 肺 結 核 症		1ヶ月10日
38	██████████ 19	両 肺 結 核 症		7ヶ月15日
39	██████████ 40	リンパ肉芽腫症		9日
40	██████████ 33	右 肺 結 核 症	右 滲 出 性 肋 膜炎(5年)	1 ヶ 月

31例、肝臓30例、肺臓21例、右腎20例、左腎15例、脳膜38例中13例である。第2表はこの40例につき血行性播種巢の有無と腸結核の病変の程度とを示したもので、表中の符号は次の如く定めた。(1)脳膜、(冊)は脳底部乃至脳室内脳膜に著明な結核性病変あるもの、(冊)は脳底部乃至脳室内脳膜にかなりの結核性病変あるもの、(十)は脳底部乃至脳室内脳膜には殆んど病変なく、その他の部の脳膜に軽度の結核性病変あるもの。(2)肺、(冊)は全肺にわたり密に粟粒結節あるもの、(冊)は肺の一部には可成り密に粟粒結節あるもの、他は散在性に少数あるもの、(十)は肺の一部に散在性に粟粒結節あるもの。(3)脾、肝、腎、(冊)は肉眼で可成り多数の粟粒結節を見えるもの、及び任意の小切片の組織標本で10個以上粟粒結節あるもの、(冊)は肉眼で少数の粟

粒結節を見るもの、及び任意の小切片の組織標本で5乃至10個の粟粒結節あるもの、(十)は肉眼で粟粒結節を認めないか又は甚だ少数認むるもの、及び任意の小切片の組織標本で1乃至2、3個の粟粒結節を見るもの、(4)腸、(冊)は小腸、大腸の黄況にわたり著しい結核性病変あるもの、(冊)は小腸、廻盲部の可成りの範囲に結核性病変を見るも大腸は殆んど病変無きもの、(十)は小腸の一部又は廻盲部に限局して、比較的軽度の結核性病変あるもの。

(イ)肺に於ける血行性播種。血行播種の時期及びその経路については、(5)Ranke, (6)Ghon, (7)Huebachmann, 等の研究があり、その播種源としては、(8)Weigert は静脈壁の結核病巣を挙げてい

第 2 表

番号	姓 名	年 齢	主 な 臨 牀 診 断	血 行 性 播 種 巢						腸
				肺	脳膜	脾	肝	左腎	右腎	
1	██████████	56	粟 粒 結 核	冊	-	+	+	+	+	+
2	██████████	34	粟 粒 結 核	冊	+	冊	+	冊	冊	冊
3	██████████	32	結 核 性 脳 膜 炎	冊	冊	冊	+	+	+	+
4	██████████	27	粟 粒 結 核	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
5	██████████	27	結 核 性 脳 膜 炎	冊	冊	冊	+	冊	冊	冊
6	██████████	22	結 核 性 脳 膜 炎	冊	冊	+	+	+	+	+
7	██████████	37	肝 硬 変 症	+	+	+	冊	-	-	冊
8	██████████	22	頸 部 リンパ 腺 結 核	+	-	冊	冊	冊	冊	冊

9	████████	27	肺、腸結核	+	-	卅	卅	-	-	卅
10	████████	51	左腎結核	+	-	卅	卅	(+)	卅	卅
11	████████	18	腸結核	+	-	卅	卅	-	-	卅
12	████████	28	右肺結核	+		-	-	-	-	+
13	████████	25	結核性脳膜炎	+	卅	卅	-	-	-	+
14	████████	23	両肺結核	+	-	卅	卅	卅	卅	卅
15	████████	52	喉頭結核	+	-	卅	卅	-	-	卅
16	████████	22	腸、腎結核	卅	-	卅	卅	卅	卅	卅
17	████████	24	腸結核	+	-	卅	卅	-	-	卅
18	████████	27	結核性脳膜炎	+	卅	卅	卅	卅	卅	+
19	████████	29	両肺結核	+		+	+	-	-	-
20	████████	26	両肺、腸結核	+	+	卅	卅	卅	卅	卅
21	████████	33	結核性脳膜炎	+	卅	-	-	-	-	+
22	████████	29	両肺、腸結核	-	+	卅	卅	卅	卅	卅
23	████████	18	腸結核	-	+	卅	卅	-		卅
24	████████	24	右乾酪性肺炎	-	+	卅	-	-	+	卅
25	████████	24	腸結核	-	-	卅	卅	-	-	卅
26	████████	49	両肺結核	-	-	-	+	+	+	卅
27	████████	26	粟粒結核	-	-	卅	卅	-	卅	卅
28	████████	34	肺、腸結核	-	-	卅	卅	卅	卅	卅
29	████████	21	肺結核	-	-	卅	卅	-	卅	卅
30	████████	31	両肺結核	-	-	卅	卅	-	-	卅
31	████████	31	腸結核	-	-	卅	卅	-	-	卅
32	████████	29	肺結核	-	-	卅	卅	-	-	-
33	████████	46	両肺結核	-	-	-	+	-	+	+
34	████████	23	肺、腸結核	-	-	卅	卅	-	-	卅
35	████████	19	両肺結核	-	-	+	-	-	+	-
36	████████	26	肺結核	-	-	-	-	-	-	卅
37	████████	26	肺結核	-	-	-	-	-	-	-
38	████████	19	肺結核	-	-	-	-	-	-	卅
39	████████	40	リンパ肉芽腫症	-	-	-	-	-	-	-
40	████████	33	肺結核症	-	-	-	-	-	-	●

るが現今ではこれは⁽⁹⁾否定的で、⁽⁶⁾Ghon の内因性リンパ腺性轉移 (Endogene lymphoglandulaere Reinfektion) が有力で ⁽⁷⁾Huebschmann、⁽¹⁰⁾福田氏等もこれを支持している。私の症例では肺に血行性播種巣を見つけたのは 21 例で、⁽¹¹⁾この中既に報告したが、バルビタール内服自殺を遂げた第 12 例を除いては、肺のみに血行性播種を來たした例はない。21 例中第 1 例より第 5 例迄の 5 例は、何れも臨牀上粟粒結核症と診断され剖検で全肺に密に粟粒結節を見た例で、何れも空洞或いは洞化病巣は無いが、⁽¹²⁾発病後約 6 ヶ月で死亡した比較的経過の長い第 1 例では、新らしいシユープとして細葉性乃至小葉性乾酪性肺炎の像を呈する病巣が混じている。第 6 例より第 21 例迄の 15 例は、全肺に密には血行性播種巣を見出さなかつた例である。この 15 例中第 6 例、第 13 例、第 18 例、第 21 例の 4 例は結核性脳膜炎で急性の経過をとつて死亡したもので、肺の血行性播種は甚だ軽微であるか治癒したものである。⁽¹³⁾第 20 例は既に報告したが、⁽⁷⁾Huebschmann が云う早期蔓延があり、その後慢性肺癆を起して來たと思われる例である。他の 11 例は慢性肺癆の経過中にシユープとして肺に血行性播種を來たしたもので、何れも全肺にわたる密な播種は認められない。これ等の血行性播種巣の顯微鏡所見は、中心部乾酪巣を取り巻き中性多核白血球、形質細胞、單核球、リンパ球浸潤がある比較的新しい粟粒結節より、中心部乾酪巣を取り巻きラ氏巨細胞、上皮様細胞、リンパ球浸潤があるやゝ古い粟粒結節に至る迄あるが比較的 新鮮な粟粒結節が多い。この血行性播種の源泉として胸部リンパ腺群を検索した。21 例中肺門リンパ腺より静脈角リンパ腺迄の胸部リンパ腺群をとり得たのは 13 例である。この 13 例中静脈角リンパ腺には病変を見出さないのは第 5 例と第 18 例の 2 例で、第 5 例は甚だしい腎結核があり、第 18 例は甚だしい性器結核があつた。静脈角リンパ腺に病変のある 11 例中、⁽¹²⁾第 1 例は血行性粟粒結節であつてこれが肺への血行播種の源泉とは考え難い。然し他の 10 例では何れも肺の血行性播種巣と對應する病変を認めた。⁽¹³⁾第 20 例は肺に石灰化した粟粒

結節があり、静脈角リンパ腺には硝子様化結節を見る。第 13 例、第 21 例は肺に硝子様化粟粒結節があり、静脈角リンパ腺には硝子様化結節を見る。第 2 例、第 6 例、第 7 例、第 8 例、第 9 例、第 14 例、第 19 例の 7 例は何れも肺に比較的新鮮な粟粒結節があり、静脈角リンパ腺に可成り新鮮な結核性病変及び結核菌を証明した。特に第 9 例では左静脈角リンパ腺に甚だ多数の結核菌を証明した。以上の事實は ⁽⁶⁾Ghon の内因性リンパ腺性轉移、⁽⁷⁾Huebschmann の早期蔓延、晚期蔓延に相当するものと思われる。肺に於ける血行播種性結核症の治癒は、X線学的には屢々あり、⁽¹⁴⁾Neumann の Tuberculosis fibrosa densa はその結果として來るものと思われるが、私の症例で第 21 例は、死亡 2 年半前左側滲出性肋膜炎、腹膜炎で入院し、胸部レ線写真で粟粒結核症と診断されたが、特別の治療も受けず入院後約 1 年 10 ヶ月で軽快し、胸部レ線写真では粟粒大陰影は殆んど消失退院したが、退院後 6 ヶ月で結核性腹膜炎を起し再び約 50 日入院し死亡した。剖検により肺には肉眼で殆んど認め得ない粟粒結節があり、顯微鏡所見で該結節は硝子様化し、周辺の肺胞は氣腫性になつて治癒し、腹膜炎も腸管、性器等と一部癒着を残し治癒していた。又第 20 例、第 27 例では、坐部レ線写真で粟粒結核症と思われた陰影が、胸檢の結果氣管支性に拡がった細葉性病巣であつた。この 2 例は共にレ線写真で認め得る空洞を有していた。

(ロ) 脳膜に於ける血行性播種、動物の實驗的研究では、血行性結核菌感染方法では脳膜に結核性病変を發生せしめ難く、直接蜘蛛膜下腔に結核菌を注入すると結核性病変を發生する事は衆知の事實である。この爲、⁽¹⁵⁾Askanazy、⁽¹⁶⁾Kment、⁽¹⁷⁾Knaup、⁽⁷⁾Huebschmann、⁽¹⁸⁾Rich、Mc. Cordock 等の多数の非血行説を生んだが、近時 ⁽¹⁹⁾武田氏は動物をアレルギー化する事により、血流感染により動物に結核性脳膜炎を起させる事に成功している。一方 ⁽²⁰⁾Harbitz は慢性の経過をとり治癒傾向の多い結核性脳膜炎の剖検例を報告している。私の症例では第 3 表の様に 38 例中 13 例に脳膜に結核性病変が見られた。この 13 例中、臨

第3表 結核性脳膜炎の症例

番号	姓 名 年 齢	脳 膜 の 主 病 変	意 識 障 碍
3	████████ 34	脳 底 部	死亡15日前より意識濁濁
5	████████ 27	脳 底 部	死亡5日前より意識濁濁
6	████████ 22	脳 底 部 著 明 度 側 頭 部 中 等	死亡10日前より意識濁濁
13	████████ 25	脳 底 部	死亡9日前より意識濁濁
18	████████ 27	脳 底 部	死亡7日前より意識不明
21	████████ 33	脳 室 内 脳 膜	死亡2日前より意識濁濁
2	████████ 34	頭 頂 部	死亡2時間前より意識濁濁
4	████████ 27	脳 底 部	死亡前日より意識濁濁
7	████████ 37	側 頭 部	死亡当日より意識濁濁
20	████████ 26	頭 頂 部	死亡前日より意識不明
22	████████ 29	前 頭 部、側 頭 部	死亡前日より意識濁濁
23	████████ 18	前 頭 部	死亡当日より意識濁濁
24	████████ 24	前 頭 部、側 頭 部	死亡当日呼吸困難、意識不明

床上定型的な症状で発病し結核性脳膜炎と診断されたのは、第3例、第5例、第6例、第13例、第18例、第21例の6例であつて、何れも脳底部は滲出物に充たされて濁濁したり、脳底部乃至脳室内に粟粒結節形成がある。第21例は輸入ストレプトマイシン注射例で、病変、症状が軽いのはその爲と思われる。他の7例中第2例、第4例は共に臨牀上肺の粟粒結核症と診断され、前者は頭痛、軽度の項強直以外には何等認むべき脳膜炎症状無く、死亡2時間前迄意識明瞭であつた。剖検では頭頂部に粟粒結節数個あるに過ぎなかつた。後者の第4例は既に⁽²¹⁾中島氏が報告した様に脳膜炎を疑わせる症状もあつたが、意識は死亡前日より濁濁したに過ぎない。剖検では脳の視交叉槽は白色に濁濁した膠様物で満たされ、右半球穹隆部に2個の小指頭大結節があり、脳質内に多数の結核結節があつた。この例は肺や脳膜に於ける粟粒結節も小指頭大であり、肝には拇指頭大に及ぶ孤在結節があり個体の強いアレルギー状態が推測された。その他の5例は、第7例、第20例、第22例、第23例、第24例で、何れも慢性肺癆の経過中に血行性シユープとして脳膜炎を起し

て来たもので、臨牀症状としては死亡当日又は前日意識濁濁を來たした程度で、剖検により前頭部、側頭部、頭頂部に少数の粟粒結節を見出したものである。且つ何れもその粟粒結節の顕微鏡所見は、新しい乾酪化巢及び少数の中性多核白血球を含む組織球、形質細胞、單核球、リンパ球の浸潤があり、比較的に新しい撒布巢である。

(ハ)脾、肝、腎等に於ける血行性播種。脾、肝、腎に於ける血行性播種は、いわゆるランケの第2期に播種を來たすものが多いとされ、更に⁽²²⁾佐藤、⁽²³⁾岡・隈部氏等は肝結核と腸結核との關係を重視している。私の症例では40例中腸結核もあるのが36例、ないのが4例である。この腸結核を見ない4例中肝のみに血行性播種巢があるのはない。又腸結核がある36例について見ると、腸結核の病変の程度と脾、肝に於ける血行性播種とは大体に平行しているが腎のそれとは脾、肝程平行してはいない。脾はその解剖学的並びに生理学的關係より見て、最も血行性播種を來たし易い。又肝臓は解剖学的にも生理学的にも腸と密接な關係がある。⁽¹³⁾第20例は著しい腸結核があり、肝にも可成り多数の血行性播種巢を見出した

が、更に肝臓内の門脈枝内腔に可成り多数の結核菌を見出した。脾、肝に於ける血行性播種巣は、顕微鏡的には少数の中性多核白血球を始め組織球、単核球、形質細胞、リンパ球でとり巻かれた小乾酪巣を有する粟粒結節、乃至上皮様細胞、ラ氏巨細胞から成る粟粒結節で比較的に新鮮な粟粒結節である。特に第9例、第20例、第22例はラ氏巨細胞のあるもの、未だラ氏巨細胞の無い新鮮な小粟粒結節が混じていて、脾、肝への血行性シユーブが頻回あつた事が推測される。又第20例は何等結核性病変の無い甲状腺間質の動、静脈内腔に少数の結核菌を証明した。

(二)血行性播種源。第4表は静脈角リンパ腺を

取り得た24例につき、血行性播種と静脈角リンパ腺との関係を示したものである。血行性播種が見出されないもので静脈角リンパ腺に結核性病巣を見たものが3例あるが、何れも病巣内に結核菌は見出されなかつた。又血行性播種巣があつて静脈角リンパ腺に結核性病巣の無い2例は、両腎癆のある例と産後発病し著明な性器結核があつた例の2例である。血行性播種巣が見出され且つその静脈角リンパ腺に結核性病変を見る場合には、一般に静脈角リンパ腺の結核性病巣内には結核菌が見出される。特に甚だ多数の結核菌が見出された例が2例ある。

第4表 血行性播種と静脈角リンパ腺との関係

血行性播種		静脈角リンパ腺		症 例	静脈角リンパ腺				
					病 巢		結 核 菌		
					無	有	無	少 数	中 等 数
血播 行性	無 い も の	3	0	3	3	0	0	0	
	有 る も の	21	2	19	6	10	1	2	
肺に血行性播種あるもの	全肺に密にあるもの	2	1	1	0	1	0	0	
	部分的にあるもの	10	1	9	4	4	0	1	
脳膜に血行性播種あるもの	定型的臨牀症状を呈したのもの	5	2	3	2	1	0	0	
	臨牀症状軽微又は不明	3	0	3	1	2	0	0	

4 考 案

以上の研究成績を総括し考案すると、(1)症例40例中35例の多数に於いて、何れかの臓器に血行性播種巣を見出した。この35例中、臨牀的に粟粒結核症及び結核性脳膜炎と明らかに診断された9例を除く26例は、大体慢性肺癆の経過をとつたものである。主な臓器におけるその頻度は、脾、肝、肺、右腎、左腎、脳膜の順である。(2)血行性播種を見出した例では、通常2個以上の臓器に血行性播種巣を見出したが、たゞ1例、バルビタール内服自殺を遂げた例に於いて、肺のみに血行性播種を見出した。(23)岡・隈部氏等も多数の剖検例に於いて、1臓器のみに血行性播種を見

出した例は無いと云つている。この例は⁽⁶⁾Ghonのいわゆる内因性リンパ腺性轉移によつて肺に血行性轉移を來たしたものと考えられ、血行性播種が必ずしも全身的のみならず、1臓器のみに來る事もあり得ると考えられる。(3)肺に血行性播種がある21例中、臨牀上粟粒結核症と診断され、全肺に血行性播種を來たした5例は、何れも空洞乃至洞化病巣はない。之に対し、空洞乃至洞化病巣がある慢性肺癆の経過をとつた11例は、肺の一部に比較的新鮮な血行性播種を來たしている。この様に慢性肺癆では、全肺にわたる血行性播種を起し難い事は、⁽²³⁾岡・隈部氏等が云う様に病変部の局所血管の変化による事もあるが、私は尙臓器自体の保有する免疫が大いに関係する

のであろうと推察する。従つて又、胸部レ線写真読影に際して、空洞乃至相当の病変があつて全肺に播種を來たし、恰も粟粒結核症の如きレ線写真像を見た場合でも、先ずその播種は氣道性のものでないかと疑ふべきである。(24)岡氏はレ線写真読影の際に、屢々氣道性播種を血行性播種と見誤っている事が多いと警告した。私も臨牀上胸部レ線写真で空洞乃至洞化病巣があり、全肺に播種を來たし粟粒結核症と思つたのが、病理組織学的には氣道性に拡がった細葉性乃至細葉結節性病巣であつた例が2例ある。(4)肺に血行性播種のある13例の靜脈角リンパ腺を検索し、10例に於いて、肺に於ける血行性播種巣と對應する結核性病変を靜脈角リンパ腺に見出し、更にその7例に於いて結核菌を証明し、特にその中の1例は甚だ多数の結核菌を証明した。すなわち(6)Ghonの云う内因性リンパ腺性轉移、(7)Huebshmanの云う早期蔓延、晩期蔓延と認められる例があつた。従つて靜脈角リンパ腺は血行性播種の播種源として重要な意義がある。血行性播種巣があつて靜脈角リンパ腺に何等結核性病変のない2例では、腎癆乃至性器結核がありこれが播種源となつたものと考えられる。(5)腦膜に結核性病変を見出した13例中、臨牀症狀定型的で明らかに結核性腦膜炎と臨牀診断をつけられた6例は、何れも腦底部に著明な結核性病変があつた。之に対し慢性肺癆の経過をとつた5例は、腦膜炎の臨牀症狀は不明か非定型的で、結核性病変は前頭部、側頭部、頭頂部に多少の粟粒結節があるにすぎない。又(18)Rich等が云う様に腦膜に於ける播種の源泉であるか否かは別として、腦質内に多数の大小の結核腫を見出した例が1例あつた。これも個体のアレルギー、臓器自体の免疫が大いに關係しているものと思われる。(6)(23)岡・隈部氏等が云う様に、脾、肝の血行性播種巣の程度と腸結核の程度とは平行する。更に私は腸結核が著明で肝臟門脈枝内腔に可成りの結核菌がある例を見た。この事は腸結核が肝臟への血行性播種の播種源となる事を示すものと思う。(7)(23)岡・隈部氏等が云う様に死亡に近い時期に血行性播種を屢々來たすという例として、私は更に何等結核性病変が無い甲状腺の間質

の動、靜脈内腔に少数の結核菌を證明した例がある。(8)以上の如く慢性肺癆の場合には屢々血行性播種を來たしているが臨牀的にはそれが分らない事も多い。これは播種源の解剖学的關係、播種された菌量、個体のアレルギー状態や各臓器の免疫等により病変の程度が違う爲と思う。

5 結 論

戦後に於ける我が國結核の一特色として、青少年の発病並びに死亡が多い。特に結核の既往症ある者がいわゆるジューブを來たし、粟粒結核症や結核性腦膜炎を発病する例が多い様に思われるので、私は第一報に於いて報告したと同じ症例40例につき臨牀上、並びに病理組織学的に血行性播種につき研究し次の様な結果を得た。

(1)症例40例中35例の多数に於いて何れかの臓器に血行性播種巣を見出した。主な臓器に於けるその頻度は、脾、肝、肺、右腎、左腎、腦膜の順である。

(2)血行性播種は通常2個以上の臓器に來ているが1臓器のみに來る事もある。

(3)空洞或いは相当の結核性病巣が無い肺には粟粒結核症を起し、全肺撒布を來たし易く、空洞或いは相当の結核性病巣がある肺には、部分的に血行性播種を來たすが全肺には播種を來たし難い。この事は病巣部血管の変化にもよるが、又臓器自体の保有する免疫によるのではないかと思われる。従つて又胸部レ線写真読影に際して、空洞乃至相当の病変があつて全肺に播種を來たした場合には、先ず氣道性播種を疑ふべきである。

(4)定型的な結核症腦膜炎の臨牀症狀を呈した例は、何れも腦底部に著明な結核性病変が認められたが、臨牀症狀は不明か又は軽度の例は、腦底部の病変は甚だ軽度で、頭頂部、前頭部、側頭部に多少の結核性病変を見たものが多い。且つこれは慢症肺癆の一轉帰として來たものが多い。これも個体のアレルギー、臓器自体の免疫が非常に關係するものと思われる。

(5)血行性播種の播種源として靜脈角リンパ腺の病変、腎癆、性器結核に重要な意義がある。又肝臟への播種源として腸結核が考えられる。

(6) 血行性播種は、いわゆる Ranke の第2期に限らず起り得るもので、慢性肺癆の場合でも屢々血行性播種を來たす。特に死亡に近い時期に血行性播種は多いものと思われる。然しそれが病変を起すか否かは別問題であり、臨牀的に血行性播種が分らない事も多い。これは播種源の解剖学的関係、播種された菌量、個体のアレルギー状態や各臓器の免疫が関係するものと考えられる。

擧筆するに、あたり懇切な御指導と御校閲を賜つた恩師沢田教授、貝田助教授に衷心より感謝の意を捧げ、御教示と御校閲を賜つた病理学教室、今井環教授に深謝す。

尙、本研究費は學術研究会議會、及び文部省自然科学研究費による所多し。記して感謝の意を表す。

文 献

- (1) 岡 治道；結核 9—1427 昭. 6
- (2) Redeker, F.; Beitr. z. Kl. d. T. b. k. 63—575 1926
- (3) 田沢 鏡二；日本臨牀結核 3—145 1949
- (4) 今井 環；臨牀と研究 23—550 昭. 23
- (5) Ranke, K. E.; Deutsch. Arch. f. Kl. Med. 119—201 u. 297 1916
- (6) Ghon, A. u. Pottschnig, G.; Beitr. z. Kl. d. T. b. k. 41—103 1919

- (7) Huebschmann, P.; Path. Anat. d. T. [b. k. J. Berlin 1928
- (8) Weigert, C.; Virch. Arch. 77—269 1899
- (9) Huebschmann, P.; Beitr. z. Kl. d. T. b. k. 88—773 1936
- (10) 福田 宗雄；日本病理学会々誌 19—521 昭. 4
- (11) 茅嶋 孝；日本臨牀結核 8—180 昭. 24
- (12) 貝田・茅嶋；日本臨牀結核 7—191, 昭. 23
- (13) 貝田・茅嶋；日本臨牀結核 8—507, 昭. 24
- (14) Neumann, W.; Die Kl. d. T. b. k. Erwach. 1930
- (15) Askanazy, M.; Arch. Kl. Med. 29, 1910
- (16) Kment, H.; T. b. k. Bibl. Nr. 14, 1924
- (17) Knaup, W.; Frankf. Ztsch. Path. 34, 1926
- (18) Rich, A. a. Mc. Cordock, H. A.; Bull. Johns Hosp. 52—5, 1933
- (19) 武田 勝男；アレルギーと結核 244, 1948
- (20) Harbitz, F.; Amer. Jour. Med. Scien. 161—212, 1921
- (21) 中島 輝之，臨牀と研究 26—164 昭. 24
- (22) 佐藤 次郎；北海道医学雑誌 11—1654 昭. 8
- (23) 岡 治道・隈部英雄；日本傳染病学会雑誌 14—819 昭. 15
- (24) 岡 治道；病理学会雑誌 2—131 昭. 18

ツベルクリン特にその製法に関する再検討

(第2報) ツベルクリンの呈色沈澱反應と皮内反應、致死反應との關聯性

京大結核研究所細菌血清学部(主任 植田教授)

白 石 正 雄

(本稿の要旨は第24回日本結核病学会總會に於いて演述した)

緒 言

前回報告したように製法を異にした「ツ」は、種々の感染時期に在る動物の皮内反應から見て力價の相違を示す、皮内反應のみにとどまらず、他の結核アレルギー反應(致死反應、牽丸反應)、血清反應(沈降反應、補体結合反應)にて測定した力

價も亦一致しない。「ツ」の化学反應を利用した測定法としては、van Deinsen¹⁾、貝原・高木²⁾等によつて、まずキサントプロテイン反應の應用がこころみられた。最近戸田教授等³⁾は蛋白反應であるテトラフェノールフタレン・エチル・カリウム反應の優秀性について報告した。是等に鑑みて、著者は前回報告の各種「ツ」の皮内反應、致

死反應と呈色反應、蛋白沈澱反應、蛋白体N量等との間に存する關聯性を明らかにせんとした。

実験方法

1) 皮内反應

前報の如く製法を異にしてつくつた青山B株4%グリセリン・ブイオン「ツ」及び朝倉株ソートン「ツ」及びグリセリン・ブイオン「ツ」の50倍及び100倍液0.1ccをF株1mg皮下接種22日後及び36日後の海猿3頭宛の背側皮内に注射発赤24時間値及び48時間値を測定した。

2) 致死反應

上記各「ツ」の0.25cc及び0.10cc宛を結核海猿(F株1mg皮下接種1月後)2乃至3頭宛の皮下に注射した。1時間以内に死ななかつたことを確かめ、以後24時間以内の致死状況を観察した。

3) 呈色反應及び蛋白沈澱反應

各「ツ」の呈色反應としてはモーリツシュ反應、ミロン反應、ニンヒドリン反應を用い、その強さは各「ツ」の倍数稀釈液0.5ccに各反應試薬0.2ccを加え、反應陽性の最高稀釈倍数をもつて示した。蛋白沈澱反應は同様「ツ」倍数稀釈液0.5ccに倍量の20%三塩化醋酸を加え、生じた沈澱反應の最高稀釈倍数を以てしめた。

4) 蛋白体N量

各「ツ」1ccに20%三塩化醋酸を倍量加え、

2、3日放置した後遠心沈澱し、上清をすて、沈渣に蒸溜水1ccを加えて浮游液とした。ついでマイクロキエルダール法にて、その蛋白体N量を測定した。

実験成績

前回報告の皮内反應の成績と第1表とを比較すれば明らかなように、結核感染36日の海猿皮内反應に一致して、青山B株70°—80°C濃縮「ツ」のモーリツシュ反應は104°C濃縮「ツ」のそれより強くあらわれた(80:40)、また朝倉株30日培養「ツ」と50日培養「ツ」、青山B株及び朝倉株の「ツ」Aと「ツ」B、朝倉株ソートン「ツ」とグリセリン・ブイオン「ツ」との間に何れの呈色反應によつても強さに差を認めなかつた。即ち呈色反應と皮内反應との間に密接な關聯性の存することが窺われた。皮内反應を24時間値と48時間値とにわけてみると、モーリツシュ反應は皮内反應の24時間値(おそらくはアルツス型反應)と並行關係にあつて(相関係数 $r=+0.87$)、48時間値(ツベルクリン型遅延反應Delayed Type)とは一致しない(相関係数 $r=+0.39$)、蛋白体量及び蛋白体N量はいずれも、モーリツシュ反應、皮内反應24時間値とは並行しない。

第2表よりわかるように、致死反應にては多数の海猿は3乃至24時間以内に内臓に特有の出血性変化を呈して死んだ。この致死反應はモーリツ

第1表 各「ツ」の皮内反應と呈色反應、蛋白量及び蛋白体-N量

菌株	培地、培養日数	濃縮温度	「ツ」	モーリツシュ反應	ミロン反應	ニンヒドリン反應	蛋白量	蛋白体N量	皮内反應(平均値)	
									24°	48°
青山B株	グリセリン・ブイオン 50日培養	70°—80°C	「ツ」A	80倍	1280倍	80倍	150倍	92.734 γ	14.1 mm	10.8 mm
			「ツ」B	80	1280	80	150	21.667	13.4	10.3
	104°C	「ツ」A	40	1280	80	150	43.182	11.3	10.0	
		「ツ」B	40	1280	40—80	150	32.612	10.9	8.4	
朝倉株	グリセリン・ブイオン 30日培養	70°—80°C	「ツ」A	40	1280	40—80	120	8.2072	10.8	10.3
			104°C	「ツ」A	40	1280	80	150	38.864	11.5
	104°C	グリセリンブイオン ソートン 53日培養	「ツ」A	40	1280	40—80	150	32.424	11.0	10.0
			「ツ」A	40	1280	40—80	20	38.513	13.3	10.4

第2表 各「ツ」致死反應

菌株	培 地 培 養 日 数	濃縮温度	「ツ」	致 死 反 應	
				0.25 cc	0.10 cc
青山 B株	グリセリン・ブイヨン 50日培養	70°—80°C	「ツ」A	● ●	● ○ ○ ○
			「ツ」B	● ○	● ○ ○ ○
	グリセリン・ブイヨン 50日培養	104°C	「ツ」A	● ●	○ ○ ○ ○
朝倉 株	グリセリン・ブイヨン 30日培養	104°C	「ツ」A	○ ●	
	グリセリン・ブイヨン 53日培養			● ●	
	ソ ー ト 53日培養			● ●	

● 3—24 時間以内致死にして特有の剖検所見を呈したのもの

○ 24 時間以上経過して致死又は 24 時間以内致死にても出血性変化を欠くもの

シュ反應、皮内反應 24 時間値とは並行せず、蛋白沈澱反應の強さ及び皮反應 48 時間値と並行するが、ニンヒドリン反應及び蛋白体-N 量との並行性を断定しえなかつた。

(後報にのべる如く、これらの結果は透析実験、その他の成績ともよく一致した。)

結 論

「ツ」のモーリツシュ反應は皮内反應 24 時間値(アルツス型反應)と並行関係にあり、三塩化醋

酸沈澱蛋白量は皮内反應 48 時間値(ツペルクリン型遅延反應)及び致死反應と並行する。ニンヒドリン反應及び蛋白体-N 量と皮内反應、致死反應との関係は尙断定しえない。

撰筆するに当り植田教授の御指導御鞭撻を深謝す。

文 献

1. Van Deinse: C. r. Soc. Biol., 131: 185, 1939; 132; 206, 1939.
2. 貝原・高木: 日本医学, 3307: 2338, 昭和17年
3. 戸田: 結核菌と BCG. 71頁. 昭和22年(南山堂)

逆性石鹼を應用せる喀痰中の結核菌の分離培養法

國立東京療養所(所長 砂原茂一博士)(指導 細谷省吾教授)

小 川 政 敏

緒 言

喀痰中の結核菌の分離培養には其の前処置として、種々の方法が考慮されている。最近細谷、添田氏等¹⁾は逆性石鹼を應用して喀痰中から結核菌を分離する方法を記載した。この業績を継承して私²⁾は本法を硫酸法と比較して本法の劣らざることを報告した。其の後伊藤、金沢氏³⁾等は逆性石鹼オスバン錠剤水溶液を用いて硫酸法と比較してその結果両者の成績に大差ないことを認め本法の

實用價值を認めた。

この報告に於て私は、(一) 逆性石鹼の喀痰中の結核菌の發育に及ぼす影響

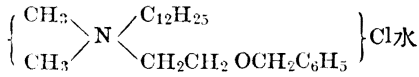
(二) 培養基中の Malachit green の結核菌に及ぼす影響について固形培地(岡・片倉培地)液体培地(Kirchner培地)を用いて併せ比較検討してみた。

実 験

第一実験

1. 実験材料

イ 逆性石鹼 ラボラン結晶の 0.5% 水溶液



ジメチル・ラウリル・オキシエチル・アンモニウム・クロライド

(塩野義製品)

(以下ラボラン水溶液と略記する)

ロ 岡・片倉氏培地⁴⁾

(i) 0.04% に Malachit green を含む (M. G. 加 O. K. 培地と略記する)

(ii) Malachit green を含まぬもの (M. G. 無 O. K. 培地と略記する。岡・片倉培地原法には 0.04% に Malachit green を加えてあるが便宜上このように記載した)

ハ 病的材料

結核患者 5 名の喀痰を早期採取し、2 時間以内に使用する。

2. 実験方法

前記喀痰を試験管壁に白金耳で磨碎し、0.5% 「ラボラン」水溶液 10 cc に約 12 白金耳入れ充分振盪混和し乍ら約一時間室温に放置後、白金耳で一塊づつあげて

(A) 其の儘直ちに

(B) 滅菌生理的食塩水で 2 回充分に喀痰塊を洗滌して後に

(i) M. G. 加 O. K. 培地 (ii) M. G. 無 O. K. 培地に各々 3 本宛 37°C 60 日間培養観察した(第一表参照)

その結果は表に示す様に

第 1 表 固形培地(岡・片倉培地)

前 処 置		(A) 0.5% 「ラ」 液 処 置										(B) 0.5% 「ラ」 液処置後生理的食塩水で洗滌									
培 養 基		(i) Malachit green 加					(ii) Malachit green 無					(i) Malachit green 加					(ii) Malachit green 無				
姓名	培養日数	11	15	21	30	60	11	15	21	30	60	11	15	21	30	60	11	15	21	30	60
		1	膿	-	-	±?	+ ₂	+ ₁	-	-	+ ₂	+ ₁	+ ₁	-	-	-	-	+ ₁	-	-	-
	粘	雑	雑	雑	雑	雑	雑	雑	雑	雑	雑	雑	雑	雑	雑	雑	雑	雑	雑	雑	雑
2	粘	-	-	-	冊	冊	-	±?	冊	冊	冊	-	-	冊	冊	冊	-	+ ₄	冊	冊	冊
	膿	-	-	冊	冊	冊	-	-	冊	冊	冊	-	-	冊	冊	冊	-	冊	冊	冊	冊
3	膿	-	-	冊	冊	冊	-	-	冊	冊	冊	-	-	冊	冊	冊	±?	冊	冊	冊	冊
	レ	-	-	冊	冊	冊	-	雑	冊	冊	冊	雑	雑	冊	冊	冊	雑	冊	冊	冊	冊
4	粘	-	-	+ ₂	冊	冊	-	-	冊	冊	冊	-	-	+ ₂	冊	冊	-	-	+ ₂	冊	冊
		-	-	+ ₂	冊	冊	-	-	冊	冊	冊	-	-	+ ₂	冊	冊	-	-	+ ₂	冊	冊

5	■	粘	-	-	+ 微	+ 微	+ 中	-	-	-	+ 小	+ 中	-	-	+ 微	+ 小	+ 中	-	-	-	+ 微	+ 中	+ 中
			-	-	-	+ 微	+ 中	-	-	-	+ 微	+ 中	-	-	-	+ 微	+ 中	-	-	-	+ 微	+ 中	+ 中
			-	-	-	+ 微	+ 中	-	-	-	+ 微	+ 中	-	-	-	+ 微	+ 中	-	-	-	+ 微	+ 中	+ 中

註(-)ハ集落ヲ認メナイモノ

(±)ハ集落ラシイガ確認困難ノモノ

(+)ハ集落ノ数ガ 10 個以内

(#)ハ " 10-30

(卅)ハ " 31-50

(卅)集落ノ数ガ 50 以上デ無数ニ融合セルモノ

(微)ハ集落ノ大サ帽針頭大

(小) " 粟粒大

(中) " 粟粒大以上

(大) " 小豆大以上

(1) 雑菌発生率は (A) M. G. 加 O. K. 培地 15本中2本、(A) M. G. 無 O. K. 培地 15 本中 2本 (B) M. G. 加 O. K. 培地 15 本中1本(B) M. G. 無 O. K. 培地 15 本中2本であり、何れも大差を認めない。

(2) 結核菌集落初発日数は (A) M. G. 加 O. K. 培地 (A) M. G. 無 O. K. 培地 (B) M. G. 加 O. K. 培地では各例とも殆んど其の差を認めない。然るに (B) M. G. 無 O. K. 培地では NO. 2 NO. 3 に於て数日早い。

(3) 60 日間観察した菌集落の状態は NO. (1)(5)に於いては何れも大差がないが、NO.(2) (3)(4)では 30日-60日 の集落の性状(数と集落の大きさ)を見ると、(A) M. G. 加 O. K. 培地(A) M. G. 無 O. K. 培地 (B) M. G. 加 O. K. 培地、(B) M. G. 無 O. K. 培地の順に、後者の方が前者より発育が良好である。

((A) M. G. 無 O. K. 培地と (B) M. G. 加 O. K. 培地とは略々同程度に集落が発育している)

結局、結核菌集落初発日数及び60日間観察後の菌集落の発育状態から見ると、逆性石鹼及び Malachit green は軽微乍ら発育阻止の傾向が見られたが其の程度は顯著であるとは云い難い。

第二実験

1. 実験材料

イ、0.5%「ラボラン」水溶液 ロ、患者喀痰 前と同じ ハ、Kirchner 培地

Sodium mono hydrogen phosphate	3.0	} 滅菌し、 1/10量の山羊血清を 加え、6cc 宛分注す る。
Potassium di hydrogen phosphate	4.0	
Magnesium sulfate	0.6	
Sodium citrate	1.5	
味の素 Ag. dest	5.0 1000.0	

2. 実験方法

〔実験 I〕

第一実験と同様に喀痰を「ラボラン」水溶液で前処理し、Kirchner 培地に培養し、その結果を4週間観察した。(第二表参照)

第2表 液体培地 (Kirchner 培地)

姓名	ガフ	痰性状	前処置 培養 日数	(A) 「ラ」液 処 置					(B) 「ラ」液処置後洗滌				
				5	10	14	20	30	5	10	14	20	30
				1	■	V	膿 粘	雑 雑	雑 雑	雑 雑	雑 雑	雑 雑	- -
2	■	VI	粘	- -	- ±	+ 卅	卅 卅	卅 卅	雑 雑	雑 雑	雑 雑	雑 雑	雑 雑

3	■	I	膿 粘	- -	- -	+ +	+ +	+ +	- -	- -	+ +	+ +	卅 卅
4	■	II	膿 粘	- -	- -	+ +	+ +	卅 +	雑 雑	雑 雑	雑 雑	雑 雑	雑 雑
5	■	VII	粘	- -	- -	- -	雑 +	雑 卅	- -	- -	+ +	卅 ●卅	卅 卅

±…集落ランイカ確カテナイモノ

卅…肉眼デ明瞭ニミラレル集落

+…肉眼デヤツト確メウル微小集落

卅…多数ノ粟粒大以上ノ集落

雑…雑菌

第二表に示す様に

(1) 雑菌発生率は (A)「ラボラン」水溶液処理の儘 10 本中 3 本 (B)「ラボラン」水溶液処理後滅菌生理的食塩水で洗滌したるもの 10 本中 4 本であつて相当高率である。

(2) 結核菌集落初発日数は 14 日以内のもの (A) NO. 2(+ 卅) NO. 3(+ +) NO. 4(+ +)

(B) NO. 1(+ +) NO. 3(+ +) NO. 5(+ 卅) 20 日以内のもの

(A) NO. 2(+ 卅) NO. 3(+ 卅) NO. 4(+ +) NO. 5(+)

(B) NO. 1(+ 卅) NO. 3(+ 卅) NO. 5(+ 卅) の如くに $\frac{3}{4}$ が 14 日、21 日目に認めたものが A(NO. 5) の一例である。即ち、(A)「ラボラン水溶液」処理のまま、(B)「ラボラン」水溶液処理後滅菌生理的食塩水で洗滌せしめたものの両者に著明な差は認められない。

(実験 2)

(i) Kirchner 培地に十万分の一の割に Malachit green を加えたもの

(ii) Kirchner 培地 (Malachit green を加えずのもの)

の二種の培地に、喀痰を (実験 1) と同様に「ラボラン」水溶液で前処理して、その儘培養し 37°C 4 週間観察した。(第三表参照)

即ち、(1) 雑菌発生率は (i) 培地 15 本中 2 本 (ii) 培地 15 本中 1 本であつた。

(2) 結核菌集落初発日数は

7 日目に既に肉眼的に明確に集落を認めたもの

(i) 培地 NO. 1

(ii) 培地 NO. 1

10 日目に肉眼で見えるもの (i) 培地 NO. 1

(+) NO. 5(+)

(ii) 培地 NO. 1(+), NO. 5(+)

染色し 40× 拡大で見えるもの、(i) 培地 NO. 2 NO. 3 (ii) 培地なし。

14 日目では肉眼で、(i) 培地 NO. 2. 3. 4. (ii) 培地 NO. 2, 4. にも小集落を認め。

21 日目に全例に於て肉眼的に集落を認めるようになった。即ち (i) 培地と (ii) 培地の間には著明な差異が認められない。

即ち Kirchner 培地を使用して 0.5% 「ラボラン」水溶液で喀痰を前処理し、培養した結果では前処置後生理的食塩水で洗滌したものとししないもの、10 万倍に Malachit green を入れたものとし入れないもの、の間には何れも顕著な差異を認めなかつた。

考 按

逆性石鹼を用いて喀痰中の結核菌を分離培養しうることは既報の如くであるが、0.5% のラボラン水溶液の濃度に於て、喀痰中の結核菌の發育増殖をどの程度に障害するかは、考慮を要する問題である⁵⁾。特に肺病竈の乾酪性病竈中には Ziehl-Neelson 抗酸性菌染色法により容易に証明し得ない結核菌の存在を否定し得ないのであつて⁶⁾⁷⁾、かかる抗酸性を有しない菌が喀痰中に排出される可能性も充分想像される所である。従つて前処置

第3表 液体培地 (Kirchner 培地)

NO 姓名		培養基 痰性 培養 日数 ガフ 状態 キー		(A) Malachit rgeen 加						(B) Malachit green 無						
				5	7	10	14	21	23	5	7	10	14	21	28	
				1	■	IV	黄粘膿	-	±	+	+	+	+	+	-	+
2	■	IV	黄粘膿	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
3	■	III	黄粘	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
4	■	V	黄粘膿	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
5	■	I	白粘	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+

- ……陰性
- ± ……肉眼で集落ヲシイモノ
- + ……肉眼で微小集落ヲヤツト認メル
- ++ ……肉眼で容易ニ集落ヲ認メル
- +++ ……肉眼で相当数ノ集落ヲ明ラカニ認メル
- ……顕微鏡で集落ヲ認メナイ
- ⊕ ⊞ ⊠ ⊡ 検鏡弱拡大 (40×) で集落ヲ認メル
- ⊕ ……検鏡油浸で集落ヲ認メル

には、抗酸性を有する結核菌即ち Koch 菌のみならず上述の様な菌体をも障害しない様な方法が最も理想的であろう。逆性石鹼は喀痰の蛋白を沈澱させる作用がある為、喀痰の均等化並に集菌に関して検討の余地を残している半面、却つてこのことのために喀痰塊の表面のみ作用して内部の非抗酸性の結核菌を障害しいことの可能性が増大する。更に肺結核患者の空洞中には混合感染を伴うことが僅少であること⁸⁾⁹⁾を考慮に入れるとき、喀痰喀出後成可く汚染を少なくして雑菌の混入を

防ぐと共に肺病竈より喀出された痰塊の表面に附着している雑菌を逆性石鹼で処理することによつて、培養の陽性率を高めうることも考慮せられる(乾酪性物質中の結核菌に対する逆性石鹼の作用に関しては研究中である)。

結 論

1. 固形培地 (岡片倉培地) 及び液体培地、(Kirchner 培地) を用いて、逆性石鹼ラボラン結晶 0.5% 水溶液 $\left\{ \begin{array}{l} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{array} \right\} \text{N} \left\langle \begin{array}{l} \text{C}_{12}\text{H}_{25} \\ \text{CH}_2\text{CH}_2 \text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5 \end{array} \right\rangle$

Cl 水で、1—1.5 時間前処置することによつて、喀痰中の結核菌を分離する事が出来る。

2. 0.5% ラボラン水溶液及び 0.04% Malachit green は極く軽微乍ら岡片倉培地に於て結核菌集落の發育増殖を阻止する傾向がみとめられた。

3. 実用としては 0.5% 「ラボラン」水溶液1—1.5 時間喀痰前処置の儘 0.04% Malachit green 岡片倉培地又は 10 万分の 1 Malachit green 加 Kirchner 培地に培養しても大した支障を認めない。

欄筆に当り恩師細谷省吾教授の御指導御校閲を感謝する。尙研究の便宜を與えられた國立療養所村松晴嵐莊長木村猛明博士、國立東京療養所長砂原茂一博士に謝意を表する。

文 献

1. 細谷, 添田 : 日本医学 3397 卷 21 頁(昭和19年)
2. 小川 : 基礎と臨床 1 卷 110 頁(昭和22年)
3. 伊藤, 金沢 : 24 回日本結核病学会演説 結核24 卷 7—8 号 230 頁(昭和24年)
4. 岡 : 日本臨床結核 1 卷 7 号 829 頁(昭和15年)
5. 細沼 : 結核24 卷 4 号 111 頁(昭和24年)
6. 隈部 : 單行本, 人体内における結核菌の生態 (1949年)
7. 植田 : 24 回日本結核病学会総会宿題報告(昭和24年)
8. 青木 : 東北医学雜誌31 卷 4 号(昭和17年)
8. 小川 : 昭和24年12月傳研, 予研學術集談会発表

膿中の結核菌非抗酸性形に就て

(附) 結核菌の抵抗性から見た現行培養法の欠陥

京大結核研究所細菌血清学部

植 田 三 郎 ・ 大 岩 弘 治

緒 言

結核性の材料例えば喀痰、膿、組織等を培養すれば、結核菌の証明は比較的容易である。にもかかわらず、それ等の材料の塗抹標本或は切片標本を染色、観察する時は、コッホ桿菌を見出し難い場合に屢々遭遇する。それが何に起因するかは検討を要する。染色標本の検査は材料の限られた一小部分を対象とするものであるから、比較的大量の材料から集菌、培養する方法に劣るのは当然ではなからうかと言う様な考え方が有る。又染色方法が不備なためにコッホ桿菌の検出が困難なのではないかと云う様な考え方から、染色方法の改良が企てられる。それにしても染色標本の綿密な観察が成功しない時に、著しく多数の集落が培養基上に發育する事は依然疑問でなければならない。

上記とは逆の場合に就ても亦、考えて見なければならぬ。即ち染色標本中に多数のコッホ桿菌

を検出出来るにもかかわらず、同じ材料を培養して貧少の集落を得るに過ぎない場合、乃至は全く集落の發育を欠く場合のある事も亦考へて見なければならぬ。特に最近 Canetti⁽¹⁾ が多数例の結核性組織材料を観察し、それに立脚して爲した考案は興味が深く、且つ暗示に富むものであろう。氏は組織を切半して、一半を塗抹染色標本とし、他半を培養したのであるが、その際染色標本中に見出したコッホ桿菌の数に比較して發育集落数が際立つて少い事に注目し、遂に染色標本中に見出すコッホ桿菌の大多数は死菌であるのではなからうかと推測した。

著者の一人植田⁽²⁾は培養基上及び組織内に於ける結核菌の發育様式と發育に伴う形態、染色性の推移を追求し、既にその所見及びそれに立脚する考察の概略を公にした。それによれば、結核菌の發育形は非抗酸性の糸狀形であつて、糸狀形は發育、伸長する他方、漸次その基部から成熟する。

やがて基部は分離して分節即ち非抗酸性の桿状形を生じる。桿状形はやがて発芽する。発芽は次第に發育、伸長して上記糸状形と同じ發育過程を踏むが、発芽を終つた後の桿状形は順次鎖状に連り、且つ次第に抗酸性に変化し、遂には抗酸性の顆粒に崩壊する。此の様にして追求する事の出來た發育様式から見れば、結核菌の發育力を持つた形は常に連鎖或は分枝の先端に位する非抗酸性の形態であつて、抗酸性の形は発芽によつて生活物質を失つた分節＝桿状形の変性したもの過ぎない。従つて既に發育力を失つた形態と見做さなければならぬ。

此様な見地から、上述二つの一見矛盾するかに見える事実、即ち染色標本中のコッホ桿菌に関する所見と培養成績とが一致し難い事実を考へて見ると、一見矛盾するかに見える是等の事實はコッホ桿菌と發育集落とを強いて直接結び付けようとするために起る結果ではないかと云う事が考へられる。若しコッホ桿菌を離れて他に發育力を持つた形態的要素を求めると出来るならば、上述一見矛盾した事實は矛盾ではなくなるかも知れない。上述の様な發育様式の考へ方に立脚して、われわれは外科的結核症の膿に就て、その中に結核菌非抗酸性形の存在を確めようと企てた。膿を材料として選んだ理由は、此の種の材料中には周知の如くコッホ桿菌を見出す事が困難であるにもかかわらず、それを培養する際には可成りの数の集落が發育するからである。尙同時に膿中の生菌数を培養に依つて計測して対照したのであるが、其の際結核菌の抵抗力から見て、現行の培養法に欠陥のある事を知つたから、その事に就ても亦、多少附記し度いと考へる。

実験材料及び方法

材料 脊椎炎の流注膿瘍及び関節腔から、穿刺に依つて無菌的に採集した膿汁を供試した。載物硝子上に一滴の食塩水を置き、それに膿汁の一滴を混じて薄く塗抹した。出来るだけ薄い塗抹標本を得る爲めに、直ちに載物硝子を傾斜、放置して、乾燥せしめた。火焰を以て固定した後、次の如くして染色した。

染色法 下記の染色法に依れば、結核菌の抗酸性形は赤色に、非抗酸性形は菌体個々に就て多少濃淡の差はあるが、黒色に染色せられる。此の染色法を Ziehl-Heidenhain 法と呼ぶ。

チール氏石炭酸フクシン液 微加温 2分間染色
 3%塩酸酒精 10秒間脱色
 水 洗
 1%鉄明バン液 15時間内外
 水 洗
 1%ヘマトキシリン液 室温 5時間以
 (20°C内外) 上染色
 水 洗
 2%次で1% (標本を揺り) 数分間弁色
 鉄明バン液 (動かして) 数分間弁色
 水洗、乾燥

ヘマトキシリン液。ヘマトキシリン 1g を無水酒精 10cc に溶解し、蒸留水を加えて 100cc とする。作成 2、3 日後から使用可能、沈澱を生じたものは既に使用に適しない。

培養法 膿汁には何等の前処置を加へることなく、その 0.1cc 宛をわれわれの研究室で慣用する卵培養基(上坂、友田⁽³⁾) 5本に培養した。

実験成績

膿の塗抹標本 100 視野中に見出した結核菌の抗酸性形及び非抗酸性形の数並びに卵培養基に發育した集落数(5本の平均値)は第1表の如くである。

第1表 膿中の抗酸性形、非抗酸性形と集落数

患者名	診 断	抗酸性形	非抗酸性形	集落数
■	股関節結核	0	3	49
■	同 上	2	21	154
■	同 上	4	4	約1000
■	腰 椎 炎	2	4	14
■	同 上	0	5	約 300
■	同 上	0	3	108
■	同 上	0	4	57
■	同 上	1	9	25
■	同 上	0	14	59
■	同 上	1	7	約 900

非抗酸性形は供試した 10 例の膿汁の全例から比較的容易に検出することが出来たが、抗酸性形は 10 例中 5 例に於て少数を見出し得たに過ぎなかつた。抗酸性形を見出した 5 例中 1 例に於ては、抗酸性形、非抗酸性形はともに同数であつたが、残りの 4 例に於ては、いずれも抗酸性形は僅かに 1、2 個を辛うじて見出したに過ぎず、それぞれ同時に見出した非抗酸性形に比較して少々目立つて少数であつた。

集落は全 10 例に於て少々多数に發育した。それぞれ 0.1 cc 宛を培養したのであり、それに対して染色標本は 100 視野を観察したに過ぎないが、此の様な多数の集落を見る時、これを直ちに抗酸性形と結び付けて考える事は困難であろう。むしろ全例から比較的容易に検出し得た非抗酸性形と發育集落との直接の關係が窺われる。

考 察

上記の染色及び培養による所見を比較対照する時、抗酸性のコッホ桿菌と發育集落とを直接結び付けて、前者から後者が發育、形成せられると云う考え方には、無理のある事が明らかである。むしろそれよりは非抗酸性形と發育集落との關係を考える方が、無理がなく自然であろう。此の様に考えると、上述の如くコッホ桿菌を見出し難いにも拘わらず、發育集落数が意外に多いと云う事実も、も早や特別に奇異とするには当らない事が解る。即ち此の様に膿を材料として選んだ事によつて、非抗酸性形こそ發育力を持つた結核菌そのものであるとするわれわれの見方、考え方を確める一つの機会が同時に與えられた。

結核性の膿汁中にはコッホ桿菌が殆んど見出されないにも拘わらず、非抗酸性形が比較的容易に見出されると云う事実が何に起因するか、又どの様な意義を持つかと云う様な点に就て、多少考察を加え度い。それは膿の由來する病竈に於ける結核菌の状態、惹いてはその組織学的な状態を示すものと考えてよいのではないかと考える。そのためには、著者の一人植田⁽²⁾が人及び動物の組織に就て爲した観察を参照する事が出来る。それによれば、組織内に侵入した結核菌は徐々に發育して

その數を増し、一定週日の後發育の極期に達する。極期に達する迄の期間には、抗酸性形の數が非抗酸性形のそれを凌駕するが、極期に達して後は、兩種形態ともに少々急激に減少する。その際病竈に蝟集する白血球が重要な役割を果すのではないかが考えられる。而して結核菌兩種形態の此の様な急激な崩壊、減少と時を同じくして、組織には廣汎な壊死が起り、又他方類上皮細胞、結合織細胞の増殖が顯著と成るが、それは兩種形態の崩壊によつて游離した物質の影響に因る事は明らかである。此の様な菌体の崩壊、減少は就中抗酸性形に於て顯著であつて、遂にはその検出は著しく困難となるが、非抗酸性形はその少數がよく残存する。

即ち此の様な所見に立つて、上述膿の所見を考按するならば、膿の由來する病竈の状態がどの様なものであるかが類推出来るのではないかと考える。結核菌が發育の極期を過ぎて崩壊、減少し、抗酸性形は既に殆んどその姿を没し、非抗酸性形のみが少數残存する如き状態に在る事が推測出来るであろう。又組織学的にもそれに対応する状態にあるであろう事が推測出来るのではなからうか。

(附) 結核菌の抵抗性から見た現行培養法の欠陥

上述膿の培養に際して、何等前処置を加えない材料をその儘直ちに培養基に移したのは、一つには膿が無菌的に採集出来る材料であつたからであるが、一つには前処置に用いる硫酸の影響を顧慮したからである。

今各濃度硫酸の影響を検討した成績を附記すれば下記の如くであつて、その影響は決して輕視出来ない。

材料及び方法

上記実験と同様、脊椎炎の流注膿瘍から穿刺に依つて無菌的に採集した膿を主な材料とし、それと対照する意味にて肺結核患者の喀痰、卵培養基に發育した人型菌 F 株から作つた菌浮游液を用いた。更に結核菌と比較する意味にて、大腸菌及び葡萄狀球菌のブイヨン培養を供試した。

膿、喀痰、結核菌浮游液、大腸菌及び葡萄狀球

菌の培養は、いずれもその 1cc 宛を遠心沈澱管にとり、各濃度の硫酸水を（対照としては生理食塩水）4cc 宛加え、強く振盪、混和して後、37°C 30 分間放置した。4000 廻轉 20 分間遠心沈澱して上清を棄て、沈渣には食塩水を加えて、2 回遠心沈澱して洗滌した。最後に得た沈渣は白金スパーテルを以て管壁にてよく磨砕しつつ 1cc の生理食塩水に浮游し、その 0.1cc 宛を上記同様の卵培養基 5 本宛に培養した。7 週間余観察して、發育集落数を数え、5 本の培養基に就て平均値を算出した。

因みに結核菌浮游液は、卵培養基 3 週間培養の人型菌 F 株の菌苔を 1 白金耳掻き取つて、注意深く 5cc の生理食塩水に浮游し、3000 廻轉 20 分間遠心沈澱し菌塊を除き、それを更に 100 倍に稀釈したものを用いた。又大腸菌及び葡萄狀球菌はブイヨン 18 時間培養のものを丁寧に振盪して後を用いた。

成 績

第 2 表 硫酸に対する結核菌の抵抗力

	患者名	診 断	硫 酸 の 濃 度			
			対照	0.5%	2%	5%
膿	■	腰椎炎	108	68	68	42
	■	〃	57	48	27	17
	■	〃	325	235	200	180
	■	〃	59	55	47	46
	■	〃	約 900	700	650	400
喀痰	■	肺結核	雑菌	同左	約 1000	
	■	〃	〃	〃	182	
菌液		結核菌	約 2500	約 1100	630	500
		大腸菌	∞	0	0	0
		葡萄狀球菌	∞	0	0	0

表中の数字は發育集落数(培養基 5 本の平均値)

先ず膿に就て見ると、対照として食塩水を混和したものから發育した集落数と、それぞれ各濃度

の硫酸水で前処置したものから發育したそれとを比較すれば、硫酸濃度の増加に伴れて、集落数が減少した。0.5% 硫酸にて既に集落数の減少が見られたが、中には半減したのもあつた。2% 硫酸では集落数は更に減少し、5% 硫酸では対照に比較して稍々顯著に減少し、中には集落数が 1 分の 1 内外に減少した例もあつた。此の様な硫酸の顯著な影響が、或は膿中に在る結核菌の抵抗力の低下のためかとも疑われるが、対照としての結核菌浮游液の成績を見れば、特別な抵抗力の低下のためでない事が解る。浮游液中の結核菌に対しても亦、硫酸の影響は顯著であつて、集落数は 0.5% では対照のその 2 分の 1 に、2% では 3 分の 1 以下と成り、5% では実に 5 分の 1 に減少した。対照の大腸菌及び葡萄狀球菌は 0.5% 硫酸にて既に完全に滅殺せられた。

上掲の成績から、膿中の結核菌は培養基上のもと同様に、一樣の抵抗力を有しない事を知る事が出来る。既に 0.5% 硫酸によつて、大腸菌及び葡萄狀球菌と同様に滅殺せられる如き抵抗力の弱い形態を略々半数含む事が知られる。残りの比較的抵抗力の強い形態も硫酸濃度の高まるに伴れて次第に影響せられるが、5% 硫酸によつても尙影響せられ難い形態が常に残存する。

考 察

結核菌を分離培養するためには、病原材料を硫酸或はアルカリを以て前処置する方法が、今日一般に賞用せられる。而して卵培養基の考案は此方法を一層有効なものとした。是等の方法に依る時は、病原材料を均質化する事が出来ると同時に、病原材料中に混在する雑菌を滅殺する事が出来る。而も結核菌を傷害する事なく集菌して、培養する事が出来る。例を硫酸にとれば、5% が一般に用いられるが、又時には 10 乃至 15% と云う如き高濃度の硫酸が用いられる。そして結核菌は此の様な直接作用の強い高濃度の酸によく抵抗すると考えられている。

それではその様な特別性の拠りどころは果して何であるか云う疑問が直ちに起るが、此の点に就ては、結核菌は特殊な蠟質被膜を持つために、或

は脂質を豊富に含有するがために、その様な特別な抵抗力を示すのであろうと云う様な考え方があ
る。併し乍ら此の様な考え方は憶測の範囲を出ない
ものであつて、事実蠟質被膜の考え方は今日次第に
顧られなくなり、われわれ⁽⁴⁾も最近其の存在を形態学
的に否定した。何れにしても此の様な考え方は、抗
酸性のコッホ桿菌、即ちわれわれの見地からすれば
既に發育力を失つた変性した形態に就て爲されたも
のであるから、結核菌の發育力を持つた形態が示す
ところの特別な抵抗力を、説明する拠りどころとは
成り得ない。發育力を持つた形態は非抗酸性のも
のであるから、此のものに就て、特別な抵抗力の拠
りどころを求めなければならない。その拠りどころは
容易に求める事が出来る。即ち糸状形の基部が成熟
して分節を生じる。此の分節は成熟形と見做すべき
ものであつて、次いで發芽する迄は、一種の發育休
止期の形態とも見る事が出来る。即ち生活物質が凝
縮した此様な發育休止期の形態は、孢子にも擬すべ
きものであつて、その抵抗力が大であらう事は容易
に推測出来る。

併し乍ら此の様な形態は非抗酸性形の發育、成熟、
發芽の過程中の一つの段階に過ぎない。非抗酸性形
は上述發育、成熟、發芽の過程に伴れて、その形態、
構造が変化する。それに伴れて抵抗力も亦、漸次変
化する事が考えられる。發育形である糸状形は最も
抵抗力が弱く、その抵抗力は一般細菌、菌類のそれ
と遜庭のないものではないかが推測せられる。併し乍
ら其の基部が成熟して生活物質が次第に凝縮するに
伴れて、その抵抗力も亦漸次強く成り、その部分
が離断して分節即ち桿状形と成るに至つて、最も強
い抵抗力を示す様に成るのではないかと考える。此
の様な桿状形が發芽するに至れば、抵抗力は再び次
第に弱まる事が考えられる。上掲の成績は此の様な
考え方をよく裏書きする。5%硫酸によく抵抗する
形態がある一方で、0.5%のそれにも抵抗し得ない
形態がある事を見逃してはならない。

以上の結果から見る時は、多量の結核菌を含有
する材料から唯單にそれを培養、証明すれば事足り
る場合は、現行の方法でも差支えないかも知れない
が、併し乍ら菌含有の少い材料から培養しよ

うとする場合、或は菌含有量を正確に知ろうとする
目的で培養する場合には、現行の硫酸処置法……
アルカリ処置法も同様であらう……は仮令低濃度
の硫酸を用いるとしても、不備である事は等われ
ない。近時はその影響を慮つて少々低濃度の硫酸
を使用する事が試みられようとしているが、尙且つ
此の様な方法によつては、誤りを犯す憂いがある。
即ち何等の前処置を加える事なしに培養する事が
最も安全であるが、そうする事が不可能な材料に
就ては、抵抗力の弱い形態を傷害する事なしに、
材料中に混在する雜菌を避けて培養する新しい方
法の考案が必要である。

結 論

1. 外科的結核症の膿 10 例を薄い塗抹標本とし、
Ziehl-Heidenhain 染色法にて染色、観察した
るに、全例に於て比較的容易に結核菌非抗酸性形
を検出する事が出来た。併し乍ら抗酸性形はその
中 5 例に於て、極く少数を見出したに過ぎなかつ
た。

同時に膿の 0.1 cc を卵培養基に直接培養した
るに、常に可成りの数の集落の發育を見た。よつ
て發育集落と抗酸性形とを直接結び付けて考
える事は困難であつて、むしろ非抗酸性形との
関係を考えるのが自然であらう。

2. 結核菌の分離培養に好んで用いられる硫酸前
処置法は結核菌に顯著な影響を與えるから精密
を要する実験には注意して用いる必要がある。
本研究に文部省科学研究費の補助を得た事を附記
して謝辞に代える。

膿材料を御分與下された本学医学部整形外科学教室
山田講師に深謝する。

文 献

1. Cauetti, G., Rev. Tuberc., 10: 26, 1946,
2. 植田三郎, 日本医学及健康保險. 3319: 9 (昭和
18年), 同 3323: 5 (同年), 日本医学 3423: 16
(昭和23年), 東京医事新誌 66: 8, 10(昭和24年),
同 66: 12, 3 (同年), 同 67: 1, 9 (昭和25年). 同
67: 2, 10(同年).
3. 上坂一郎, 友田博. 日本医学及健康保險 3311: 17
(昭和17年). 結核研究 1: 3, 244(昭和18年)
4. 植田三郎, 山田修. 東京医事新誌 67: 3, 6 (昭和
25年)