

- 3) 中村豊, 佐々木源三郎, 梅田芳次郎: 北海道医学会雑誌, 18: 1954~1971, 昭15
 4) 児島道弘: 血清免疫学雑誌, 4: 51~80, 昭18
 5) 高崎五郎: 結核, 25: 85, 昭25

- 6) 中武二良: 熊本医学会雑誌, 19: 1062~1079, 昭18
 7) 丸山千里: 日本臨牀結核, 8, 4, 昭24

結核菌の毒力に関する実験的研究 (第1報)

弱毒及び強毒人型菌の皮下接種によるモルモット臓器内の生菌の消長並びに病理組織学的所見について

国立公衆衛生院衛生微生物学部

染谷 四郎・川村 達

国立予防衛生研究所病理学部

江頭 清之

1 ま え が き

著者^①等はさきに結核菌の毒力に関する研究において、実験に用いる菌株の条件の如何によりその成績に著しい差異があらわれること、すなわちその使用菌が分離後どの位の期間継代培養されてきているかが考慮されねばならないことを述べた。今回は喀痰より分離後長期間の継代培養により弱毒化した人型結核菌と分離して間もない強毒人型結核菌とをモルモットに接種し、体内臓器における結核菌の消長及びその病理組織学的所見を観察し、結核菌の毒力の問題を検討した。その成績の一部は既に他の機会^{②③}において発表したか、ここにその成績をまとめて報告することにする。

2 実験方法

本実験に用いた結核菌株は芝 157 株及び馬場株であつて、何れも結核患者の喀痰より分離培養したもので、芝 157 株は分離後約 4 年間馬鈴薯グリセリン培地に継代培養を行つたもので、馬場株は分離後間もない人型結核菌である。この両菌株について夫々その 0.01mg をツベルクリン反応陰性の体重 350 瓦乃至 450 瓦のモルモットの右下腹部皮下に接種し、その後 2 日、5 日、10 日、15 日、21 日、35 日、45 日、56 日及び 84 日に、芝 157 株接種群では 6 頭、馬場株接種群では 3 頭宛を屠殺剖

検し、まづ肉眼的所見を観察し剖見所見は佐藤法によつて記載した。次に菌接種局所、局所淋巴腺、後腹膜淋巴腺、門脈淋巴腺、気管淋巴腺、肺、肝脾について結核菌の定量培養を小川氏法^{④⑤}により行い、発生したコロニー数より各淋巴腺及び臓器内の全結核菌生菌数を概算し、又これに併行して上記各臓器の病理組織学的検索も行つた。この間毎週ツベルクリン反応、接種局所、左右膝蓋淋巴腺、体重、栄養についても観察した。

3 実験成績

(1) 接種局所及び淋巴腺の変化について

接種局所の変化は第 1 表に示すように接種後第 1 週の観察では芝 157 株接種群では接種局所の変化は遅く始り治癒傾向は強いのに反し、馬場株接種群では第 1 週において既に大部分硬結を示し、第 5 週以後においては殆ど潰瘍となり、接種局所の変化は早く起つて、潰瘍として永く続き、治癒傾向は少いことが見られた。次に膝蓋淋巴腺の変化のうち接種局所淋巴腺については第 2 表に、その対側淋巴腺については第 3 表に示す通り、馬場株接種群の方が明かに早くおこり、更に変化が強く殊に接種局所対側の淋巴腺の変化においては両群間の差が著明であつた。

(2) 肉眼的剖検所見について、接種後 15 日、21 日、34 日、45 日、56 日、84 日における両菌株接

第1表 芝157株接種群と馬場株接種群における接種局所変化の比較

局所変化		観察期間(週)											
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
芝 157 株	ナシ	46	1	1	1	1	1	1	1	検査 セズ	1	検査 セズ	1
	硬結		35	15	9	4	3	2					
	膿瘍		5	7	5	2	1						
	潰瘍		1	11	7	2	5	3	2				
	痂皮			2	8	15	12	12	13				
	癩痕						1		1				
観察総数		46	42	36	30	24	23	18	17	6	6		
馬 場 株	ナシ	1								検査 セズ			
	硬結	21	4										
	膿瘍		18	8	1	1	1						
	潰瘍		1	8	12	12	11						
	痂皮						1						
	癩痕												
観察総数		22	23	16	13	13	13	7	7	3	3	3	

第2表 芝157株接種群と馬場株接種群における接種局所所属淋巴腺変化の比較

淋巴腺		観察期間(週)											
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
芝 157 株	-	46	1					1	2	検査 セズ	1	検査 セズ	
	±		12	4	3	4	3	2	1				
	+		22	18	12	10	11	8	7				
	卍		6	11	12	8	7	4	4				
	卍		1	2	3	2	4	3	4				
	観察総数		46	42	35	30	24	25	18	18	6	6	
馬 場 株	-	14								検査 スズ		検査 セズ	
	±	7	3										
	+	1	7	4	2	2							
	卍		9	12	4	5							
	卍			10	7	4							
	観察総数		22	19	26	13	13	7	7	3	3	3	

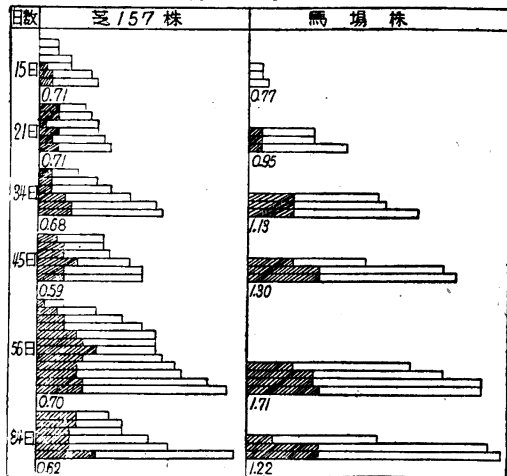
(-無変化、±稍々硬く触れるもの、+米粒大、卍小豆大、卍大豆大、卍蚕豆大)

第3表 芝157株接種群と馬場株接種群とにおける接種局所の対側腋窩淋巴腺変化の比較

リンパ腺変化		観察期間(週)																
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII					
芝 157 株	-	46	42	36	30	21	18	6	3	検査 せず	1	検査	0					
	±					3	4	9	8		3	検査	4					
	+						1	3	7		2	検査	2					
	観察総数	46	42	36	30	24	23	18	18		6	6	6					
馬 場 株	-	21	6	1	検査 せず	1	1	検査 せず	2	2	2	検査 せず						
	±	1	8	7									4	4	4	3	2	2
	+		5	8									9	9	2	3	2	2
	観察総数	22	19	16									13	13	7	7	2	2

第1図

菌接種後各時期における両菌接種群間各淋巴腺
反内臓の肉眼的病変の比較



註：各柱の長さは病変(+)の総和を示し、斜線部は内臓の病変、他は淋巴腺の病変を示す。各群ヒストグラムの下の数値はその群の動物の脾臓の重量の平均である。

種群の肉眼的病変を比較すると第1図のようになる。すなわち 34 日より次第に両群間の病変の差は明瞭となり、淋巴腺及び内臓の変化の何れから見ても馬場接種群における病変は芝 157 株接種群に較べて著しく強く、その所見は芝 157 株の分離の当初の動物実験成績に匹敵した。さらに芝 157 株接種群の病変の程度は 34 日目以後では馬場株

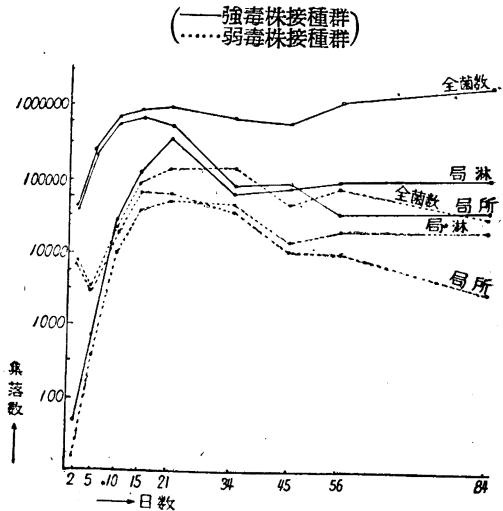
接種群に較べて遙かに軽微であつたが接種後早い時期、15 日及び 21 日の観察では両群間の病変の差が殆ど認められないが、この点については病理組織学にも検討を行つた。

(3) 淋巴腺及び臓器における結核菌定量培養による生菌の消長について

接種局所及び局所淋巴腺における生菌数の比較

第2図

菌接種後各時期における両群の各淋巴腺及び臓器内の全生菌、さらに接種局所、局所淋巴腺の生菌の消長の比較



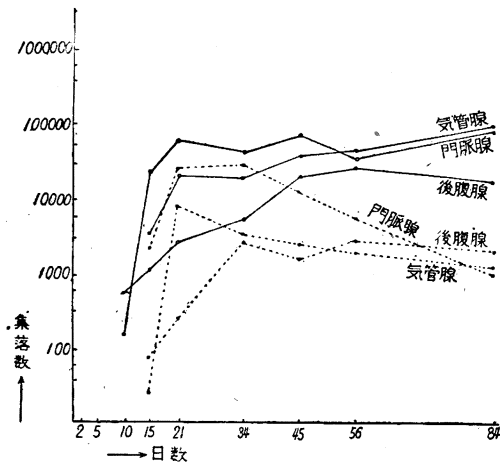
は第2図に示す通りであつて、先づ芝 157 株接種

群の接種局所の生菌の消長を見ると、接種後2日目から5日まで少々減少して再び上昇し15日で最高となり、その後は次第に減少する。局所淋巴腺では2日より次第に増加し、21日乃至34日で最高となり、その後少々減少して、56日以後は殆ど増減なく経過している。次に馬場株接種群接種局所では最初から減少することなく増加し15日で最高となりこの時期の総集落数は芝157株接種群の約10倍であつた。その後は56日まで少しく減少し、56日以後は殆ど増減が見られない。局所淋巴腺では2日目より急激に増加し21日で最高になる。この時期の総集落数は芝157株接種群に比し約10倍であつた。その後34日まで著しく減少した後は少々増加の傾向にあることが見られた。次に

第3図

接種各時期における両群の後腹膜淋巴腺、門脈淋巴腺、気管淋巴腺内の生菌の消長の比較

(— 強毒株接種群)
(..... 弱毒株接種群)



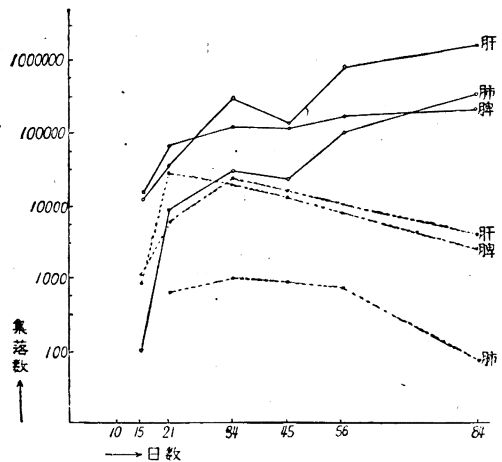
後腹腺、門脈腺、気管腺における生菌数の消長については第3図に示す通りであつて、芝157株接種群では後腹膜腺に初めて結核菌が証明されるのは接種後15日であつた。その後34日まで次第に増加し(この時期の総集落数約3000)その後は著変なく経過する。門脈腺に初めて菌が証明されたのは同じく15日でその後21日まで増加し(この時期の総集落数は約30,000)その後は34日まで変動なく、その後は次第に減少しているのが認められた。気管腺では接種後15日に菌が証明せられてから

21日目まで急激に増加し(この時期の総集落数約10,000)その後次第に減少している。馬場株接種群では初めて菌の証明されたのは後腹膜腺、門脈腺何れも接種後10日で芝157株接種群より早く、気管腺のみは接種後15日であつた。後腹膜腺では生菌数は56日まで次第に増加する一方で(この時期の総集落数は約30,000)その後少々減少している傾向が見られたが、門脈腺では接種後10日から15日21日まで急激に増加し(この時期の総集落数約80,000)その後は少々増加しており、気管腺では接種後15日から21日まで少々増加が著しく(この時期の総集落数約20,000)その後はゆるやかではあるが絶えず増加しているのが認められた。更に脾、肝、肺における生菌の消長は第

第4図

菌接種後各時期における両群の肝、脾、肺における生菌の消長の比較

(— 強毒株接種群)
(..... 弱毒株接種群)



4図に示す通りであるが、菌の初めて証明せられた時期は芝157株接種群で肺が21日であつた以外は両株共接種後15日に証明せられた。また馬場株接種群では脾、肝、肺の何れにおいても生菌はかなり著しく増加しているのに反し、芝157株接種群では接種後21日乃至34日までは増加しているが、その後次第に減少する一方で、接種後34日の両群の各臓器における総集落数を比較すると芝157株接種群では脾: 約30,000 肝: 約30,000 肺: 約1,000、馬場株接種群では脾: 約100,000

肝：約 300,000、肺：約 30,000 であつて、後者では各臓器共生菌数が著明に多いことが観察された。次に各リンパ腺、各臓器などの集落数を総計した全集落数の推移を両群について比較すると、第 2 図に示すように馬場株接種群では接種後 2 日目から 15 日目までは急激に増加し、その後 45 日目まで一時稍々減少しているが、その後再びゆるやかに増加しているのに反し、芝 157 株接種群では 2 日目から 5 日目まで急に減少し、その後 21 日目まで急激に増加し、その後次第に減少しているのが見られる。勿論この全集落数から予想せられる全菌数は動物体の極く一部分の臓器中の生菌の消長を示すのに過ぎないがその数において、またその増殖の傾向において両株間に著しい差異のあることがうかがわれる。

(4) 病理組織学的所見について

リンパ腺、臓器の病理組織学的所見を見ると、肝及び脾に結核結節が始めて認められたのは芝 157 株接種群の方がむしろ早く、接種後 10 日乃至 15 日目であつたが、馬場株接種群ではかえつて遅く、接種後 21 日乃至 34 日目であつた。また肺における所見からは馬場株接種群では 34 日目以後は常に結核結節が見られたのに、芝 157 株接種群では全経過を通じてみとめられず、その他の部位でも結核結節の数は馬場株接種群の方が遙かに多かつた。肺、脾などでは両菌株の作る結節には特に質的の差異はなかつたが、ただ肝では芝 157 株接種群において各時期に必ず少数ながら結節中心部の壊死乃至 Necrobiosis が見られたのに対し、馬場株接種群では何れの時期においても認められなかつたのは本実験における両群間の相違点であつた。しかしながらこれらの点については現在更に検索を継続しているので、その詳細な成績については、他の機会において報告したいと考えている。

4 考察及び総括

病原菌の毒力 (Virulence) という言葉には人により色々な意味に解釈せられており、極めて複雑なものである。結核菌についても、菌体の毒素というような菌自身の質的な要素やその他種々様々な因子が考えられている。しかしながら著者等

はここでは結核菌の毒力を生体に対し結核性病変を作る能力であると一応定義して、実験成績を考察することにする。

このような観点から見る時は本実験に用いた馬場株は明かに強毒菌であり、芝 157 株は弱毒菌であるということには異論はあるまい。この弱毒、強毒の人型結核菌感染モルモットの各臓器の結核菌定量培養成績によると接種局所及びその所属リンパ腺では集落数にかなりの差異はあるが、その推移は大體同様であつて、後腹膜腺、気管腺、門脈腺、肺、肝、脾においても強毒接種群では弱毒接種群に比して集落数は著しく多く、弱毒株では接種後 21 日乃至 34 日頃より、何れのリンパ腺、臓器においても減少しつつあるのに反し、強毒株では殆どすべての臓器において増加しており、その傾向は殊に肝、肺において著明であつた。なおまた菌接種後、後腹膜腺、門脈腺、気管腺、肺、肝、脾、に初めて菌が証明された時期は弱毒株では肺が 21 日であつた外はすべて 15 日であり、強毒株では後腹腺、門脈腺が 10 日で稍々早く、他はすべて 15 日であつた。このようにモルモットの皮下に接種された菌がリンパ腺、臓器に発見されるのに、強毒株接種群の方が稍々早いことが観察された。Soltys 及び Jennings²⁾(1950) の人型 H37Rv の 0.01mg モルモットの皮下接種による実験においては脾に菌が証明されたのは接種後 4 日であつたとの報告から見ると、本実験の成績よりかなり早く、著者等も動物接種法を採用し、さらに検査間隔を短縮すれば両菌株間にもつと著明な差異があらわれたのではないかとも思われる。

次に病理組織学的に就いてであるが、弱毒株接種群の方が強毒株接種群より結核結節が早くあらわれ、特に肝においては結節中心部の壊死乃至 Necrobiosis が弱毒株接種群にのみ見られたが、このような事実が今後の実験においても認められる普遍的事実であるならば、本実験に用いた菌株間には最初から菌自身の質的差異があつたのではないかとの予想もなりたつのである。しかしながら Bloch (1948)³⁾ の喰菌現象と結核菌の毒力との関係を観察したマウスの実験において、強毒菌と弱毒菌とで喰菌状態の時間的分布に著しい相違が

あることを菌の増殖力の差異で説明しようとしているが、著者等は今回の実験において直接結核菌の毒力とは生体内における増殖力であるという事実を観察し得たのであつて、結核菌の毒力に関する諸因子中この増殖力こそは質的要素などの影響を凌駕するものであると考えるものであるが、これらの関係については今後更に検討する計画である。

5 結 論

喀痰より分離してから数年間の継代培養により弱毒化した人型結核菌芝 157 株と分離して間もない強毒人型結核菌馬場株を、モルモットを用いその体内各臓器における結核菌の生菌の消長と肉眼的及び病理組織学的所見とを比較検討したが、その成績を綜括すると次の通りである。

(1) 強毒菌株接種群においては弱毒菌接種群に比して接種局所の変化、各淋巴腺、各臓器の肉眼的変化はすべて著明であつた。

(2) 淋巴腺、内臓臓器における生菌の消長から見ると強毒菌株は菌の増殖著しく、しかもこの傾向は永く続き殊に肝、肺においては著明であつたが、弱毒菌株では増殖の度合は弱く、接種後 21 日乃至 34 日目頃より減少している。

(3) 病理組織学的所見は弱毒株の方が結核結節の出来方が早く、殊に肝においては結節中心部

の壊死、Necrobiosis は弱毒菌株接種群のにおいてのみみとめられたが、全経過を通じて見ると、強毒接種群の方が結核結節の数は遙かに多かつた。以上の成績から結核菌の毒力はその菌の生体内における増殖能力であるということが出来ると考える。終りに臨み御指導を賜つた柳沢謙博士に深謝する。

文 献

- ① 染谷四郎、外 5 名：結核菌の毒力に関する実験的研究(第 1 報)結核、1 (昭和 24 年)、11
- ② 染谷四郎、外 2 名：結核菌の毒力に関する研究(第 2 報)結核：24 (昭和 24 年)、218
(第 24 回日本結核病学会総会演説要旨)
- ③ 染谷四郎、外 2 名：結核菌の毒力に関する研究、昭和 25 年 5 月、第 25 回日本結核病学会総会において発表
- ④ 小川辰次、外 2 名：結核菌の定量的培養について、結核、24 (昭和 24 年)、13 (2 号)
- ⑤ 小川辰次、外 2 名：結核菌の受量培養に就いて、結核、24 (昭和 24 年)、80
- ⑥ Soltys, M. A. and Jennings, A. R., The dissemination of tubercle bacilli experimental tuberculosis in the guinea pig, Am, Rev, Tuberc, 61, (1950) 399
- ⑦ Bloch, H : The relationship between phagocytic cells and human tubercle bacilli, Am. Rev, Tuberc, 58(1948), 662

肺結核患者の尿の「ナトリウム・クロール」商に対する人工氣胸の影響

慶応義塾大学医学部 内科学教室(主任 大森教授)

広 川 俊 泰

尿の Na の定量は Kramer-Gittleman 氏法の遠藤氏半減法に、Cl の定量は Koranyi-Ruszyanik 氏法によつた。被検者は何れも、臨床医学的検査、「ツ」反応、胸部 X 線写真検査等により、肺結核と診断された者で、全部入院させた上、毎日その日の全尿を蓄尿させた。被検者には検査期間中食事の制限を行わなかつたが、Na 及び Cl を

含む薬の内服並びに注射は行わないようにした。人工氣胸器は「ガラス」氏式を使用した。第 1 回目(初回)の人工氣胸には、25 cc 乃至 200 cc の空気を、第 2 回目には 50 cc 乃至 400 cc の空気を、第 2 回目には 200 cc 乃至 400 cc の空気を、第 4 回目には 400 cc の空気を、第 5 回目には 500 cc の空気を送入した。第 1 回目の人工氣胸と