

第5章 結 論

「スト」で治療した結核 23 例につき、乾酪性肺炎の家兎肺組織抽出物による皮内反応及びツ反の消長を追求して得た結果は次の如く要約される。

1. この皮内反応は急性進行性では陰性を呈する例が多いが、「スト」の投与によつて、之を抑制し、闘争旺盛となれば陽性になり、更に治癒停止状となれば陰性になり、再び悪化すれば陰性となる例が多い。
2. 随つてこの皮内反応の連続的検査は、臨床所見を参考にすれば、予後判定及び治療の目標に役立つと思ふ。
3. この皮内反応とツ反との消長の関係は不定である。
4. この抽出物の 3 万倍溶液 1cc 対し、「スト」を 1mg の割合に加えても、この皮内反応には殆ど影響がな

い。
稿を終るに臨み御指導と御校閲を賜つた、恩師中川教授に満腔の謝意を表わします。

文 献

- 1) P. Coursmont, P. Sedallian, M.M. Schmitt, G. Deres : Bull. Acad. nat. méd 133 : 386, 1949.
- 2) 高崎五郎 : 結核, 25 : 85, 昭 25
- 3) 田村彰 : 日本臨牀結核, 8 : 117, 昭 25
- 4) H.C. Hinshaw & W. MC Dermott : J.A.M.A. 132 : 4, 1446 : 132 70, 1946.
- 5) H.J. Corper & M.L. Cohn : J.A.M.A. 137 : 357, 1948
- 6) 島本多喜雄 : 臨牀, 2 : 43, 昭 24
- 7) 竹広登 : 日本臨牀結核, 7, 2, 昭 23

結 核 菌 の 毒 力 に 関 す る 研 究 (第3報)

(人型・牛型結核菌の静脈内感染による「マウス」臓器内における生菌の消長)

国立公衆衛生院衛生微生物学部

染 谷 四 郎 ・ 林 治

国立予防衛生研究所獣疫研究部

田 島 嘉 雄 ・ 遠 藤 元 清

1 緒 言

さきに著者等^(1,2)は結核菌の毒力に関する研究において人型結核菌感染モルモット臓器の結核性病変及び動物体内における生菌の消長を観察し、その結果分離直後の結核菌はその毒力が極めて強く、分離後継代培養を経るにしたがつて毒力の低下すること、さらに強毒菌は弱毒菌に比して動物体内における増殖力が著しいことを報告した。従つて各種抗酸性菌の動物に対する病原性を検討する場合実験に用いる菌株の培養条件が極めて重要な影響を示すことを知つた。

抗酸性菌の各種動物に対する病原性の差異から菌型が鑑別出来るということは一般に言われているところであるが、結核菌の菌型を鑑別する目的で行つた実験は少ない。例えば Stempel⁽³⁾ Bequignon⁽⁴⁾ 等は「マウス」静脈内、腹腔内或は脳内接種により、動物の斃死期間及び臓器病変をもつて、人型並びに牛型を鑑別せんと

試みたのであるが、その成績よりして両型を正確に鑑別することは不可能の様である。しかしその後 Lurie⁽⁵⁾ は家兎を用い、Wessels⁽⁶⁾ は「ラツテ」を用いて各種菌型結核菌の間に病原性の差異があることを報告している。

著者等は本問題の検討を「マウス」を用いて行つた。すなわち「マウス」の静脈内に各型結核菌を接種し、接種結核菌の毒力と菌型との関係を感染動物臓器の定量培養によつて体内における生菌の消長と肉眼的観察による臓器の病変により比較した。こゝにその成績の概略を報告する。

2 実験方法

本実験に用いた結核菌は人型結核菌 5 株 (フランクフルト、馬場、H37、芝 157、芝 157 MⅢ)、牛型結核菌 2 株 (牛 10、牛 263) 及び著しく弱毒化した鳥型結核菌 1 株、計 8 株である。

予め本実験に先立ち人型菌並びに牛型菌については家兎及び「モルモット」、鳥型菌については家兎及び家鶏について毒力実験を行った。

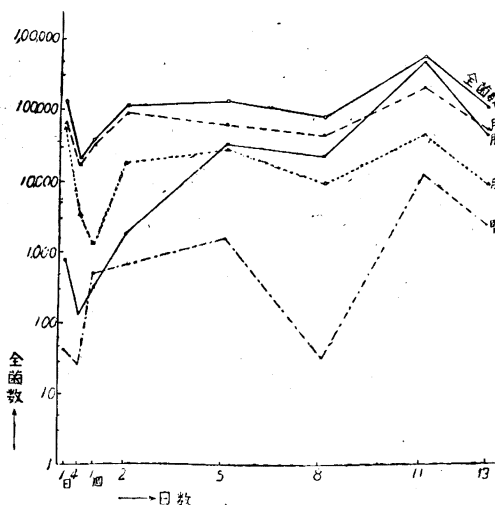
使用した「マウス」は体重 12~15 瓦白色健康のものを選り、供試 1 菌株につき 50~60 匹を使用、これを 2 群に分けて第 1 群には 0.1mg、第 2 群には 0.001mg を尾静脈より接種した。菌浮遊液は、培養基上の菌を掻取り濾紙にて水分を吸取り、秤量してから瑪瑙乳鉢にて丁寧に磨碎、所定の菌量含有するように 0.25%「ゲラチン」加生理的食塩水にて稀釈した。なお接種と同時に菌浮遊液を稀釈し、その 0.1cc を小川培地に培養して発生した菌集落数から菌浮遊液内の生菌数の概数を予想した。

なお接種後、1日、4日、1週、2週、その後は凡そ2週間隔で両群共各2匹宛を殺し直ちに解剖、肺、肝、脾及び腎臓の結核性病変を肉眼的に観察した後、小川氏法⁽⁷⁾による臓器内結核菌の定量培養を行った、すなわち秤量した臓器を乳鉢にてよく磨碎し、これに1%苛性曹達水を10倍乃至50倍に加えて均等なる乳剤とし、この0.1ccを各5本の小川培地に分注、孵卵器内に横え2~3日後乾燥してから綿栓をゴム帽に代えた。発生集落の観察は培養4週(牛型菌では5週)で発生した集落数を計算、全組織重量に換算した。

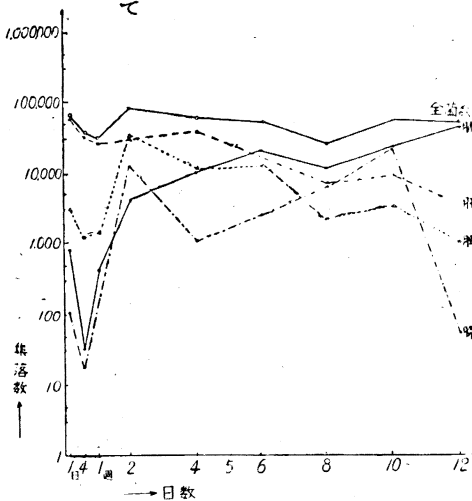
3 実験成績

1) 分離後数年乃至数十年間継代培養せる菌株についての成績。

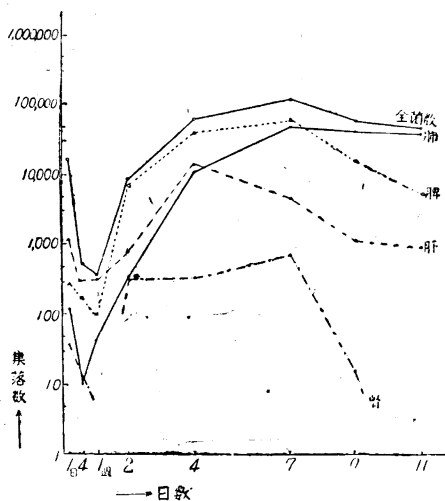
第1図 牛型菌牛 10株 0.1mg 感染マウス臓器間の生菌数の消長について



第2図 人型菌芝 157株 0.1mg 感染マウスの臓器内の生菌数の消長について



第3図 人型菌 H 37株 0.1mg 感染マウス臓器内の生菌数の消長について



本実験に使用した菌株は5株で、牛型菌、牛 10株及び人型菌、「フランクフルト」、芝 157、芝 157 M III、H 37株である。使用菌株の由来については、芝 157株は昭和 17 年中等学校生徒より分離したもので、M IIIは「モルモット」を3代通過させたものである。他の牛 10、「フランクフルト」、及び H 37株は何れも分離後数十年経過したもので、著者等の海峽による毒力実験の成績から推定して、その毒力は相当に低下しているものと想像される。

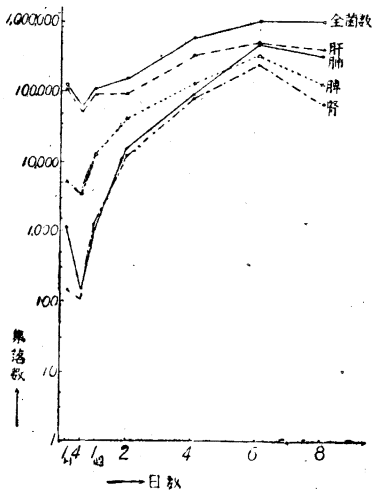
これらの菌株による実験成績中 0.001mg、接種群については図表は省略し、0.1mg、接種群については第 1、2、3 図に示す通りである。

すなわち各臓器内の結核菌は接種4日後で一旦減少し、その後漸次増加する傾向が見られる。肺においては、何れも日数の経過するにしたがつて菌数が一路増加する。牛10株では菌数もやや多く接種11週後、芝157株では12週後、H37株では11週後と何れも増加し、減少の傾向は見られない。肝及び脾においては、人型菌である芝157及びH37株はその菌数が最高に達するのは接種後大体2週乃至7週で以後は漸次減少する傾向が見られたのに反し、牛型菌牛10株は接種13週後まで著しい変動なく経過していることと、牛10株の肺における菌数がやや多いのが両菌型に見られた差異である。腎では菌株により著しい変動を示すように見られたが他の臓器に較べて菌の増殖は少なかった。次に0.001mg接種群では、牛10及び芝157株間に特に認むべき差が見られず、0.1mg接種群と同様、肝及び脾の菌数が減少する時期においても肺の菌数はなお益々増加する点は前述と同様の所見である。H37株の肺の菌数が前記2菌株並びに肝及び脾に比較して相当少かつたが、このことは前述のように分離後継代培養の期間が長いので(分離後40余年経過)本菌株の毒力が相当低下している証左ではないかと思われる。

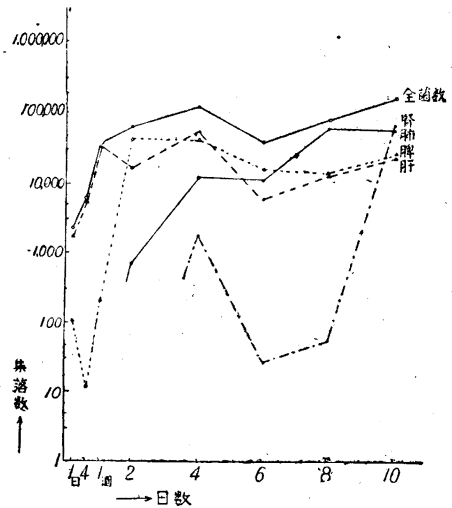
2) 分離後新鮮なる菌株についての成績。

本実験に使用した人型菌馬場株は、昭和24年公衆衛生院衛生微生物学部研究室において肺結核患者喀痰より分離したもので、馬鈴薯「グリセリン」培地に培養3代目のものであり、牛型菌牛263株は、昭和24年畜牛結核の肺より分離したもので「グリセリン」を除いた岡片

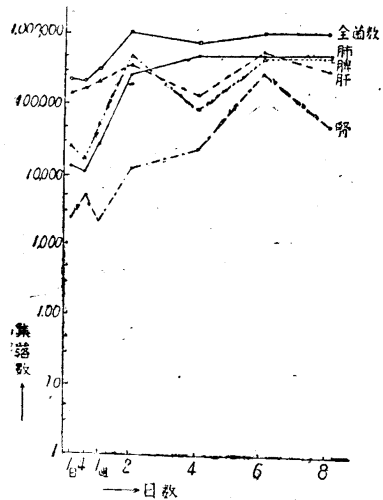
第4図 牛型菌牛263株感染マウス臓器内の生菌数の消長について (其の1) 0.1mg 接種の場合



第4図 牛型菌牛263株感染マウス臓器内の生菌数の消長について (其の2) 0.001mg接種の場合



第5図 人型菌馬場株感染マウス臓器内の生菌数の消長について (其の1) 0.1mg 接種の場合

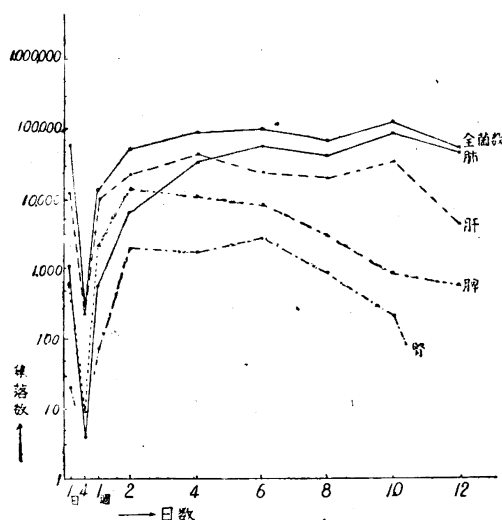


倉培地に培養4代目のもので、これら2菌株について実験した。

実験の成績を示すと第4図及び第5図の通りである。

図に示すように0.1mg接種群では、両菌株間に殆ど差が見られない。すなわち両株共各臓器内の結核菌は接種頭よりその数が多く、接種4週乃至6週で最高に達する。しかもその持続する期間が長く、接種8週後においても両菌株の肺及び肝の菌数は減少する傾向が見られ

第5図 人型菌馬場株感染マウス臓器内の
生菌数の消長について
(其の2) 0.001mg接種の場合



ない。その他脾及び腎の所見も肺及び肝の所見と殆ど同様の傾向を示すことが見られた。

0.001mg接種群でも両菌株共殆ど同様の成績を示している。特に肺及び肝の所見は全く同様である。

3) 上記各菌株感染「マウス」の各臓器における肉眼的病変所見について。

結核菌感染「マウス」臓器の結核性病変は、肉眼的に肺、肝及び脾に見られ、腎に病変が見られるのは殆ど稀であつた。最も著明な病変の現われたのは肺で、菌株により異なるが、大体接種2週後頃より嚔粟粒大、灰白色、半透明の小結節が認められ、日数の経過にしたがつて、その数も増え特に分離後新しい菌株では、6~8週後に至れば結節が融合するのが見られた。また肺の病変の度合と生菌数とは略並行する傾向が見られた。なお病理組織学的所見については現在検討中であるので、他日に報告したい。

4 総括並びに考察

Wessels は「ラツテ」による実験で、生菌の体内における消長を見ると人型菌と牛型菌との間に顕著な差が見られ、ことに肺においては牛型菌の増殖が著しいことを認め、この点から菌型の鑑別が可能であることを報告している。今回著者等は「マウス」を用いて実験を試みたのであるが、果して同様の成績が得られるかどうかを各型結核菌の静脈内感染を行い、その後肺、肝、脾及び腎における生菌の消長を観察し、その消長の状態と菌型と

の関係を検討した。

実験の結果、分離後継代培養の古い菌株では菌型に殆ど関係なく、略同様の傾向を示し肺、肝、脾及び腎に証明される結核菌の菌数は少く、また減少する時期も比較的早い。分離後新しい菌株では、菌型に関係なく、各臓器で増殖する速度が速く、菌数も多い。また菌の減少する時期が遅い点等長期間継代培養菌株と比較するとその間に明かな相違を認めることが出来た。

この様に分離後の期間によつて異つた成績を示すことは、さきに著者等が報告した「モルモット」による実験成績と、よく一致する点であつて、分離後の継代培養によつて著明に毒力が低下してしまふことは容易に考えられるところである。

以上のように動物体内における結核菌の増殖力の点から考えると、Wessels の実験のように人型菌と牛型菌との間に異つた成績を示す事実を以つて人型及び牛型菌を鑑別することは可能であるというのは、これは菌型による相違よりは、むしろ使用した菌株の継代培養によつて起つた毒力の差異によるものではなかつたかと思われるのであつて、因みに彼が使用した菌株は、人型菌が分離後18年経過したものであり、著者等の「モルモット」による実験及び本実験から考えてもその毒力が相当低下していたことが当然相像される。これに反して彼の使用した牛型菌は分離後比較的新しいものようであり、従つて両菌株の毒力には相当の開きがあつたのではないかと思われる。

以上の事実から結核菌の毒力の実験及び菌型についての実験においては使用菌株の分離培養後の条件を充分考慮に入れたいと思はざる誤を犯すことがありうることを指摘したい。

5 結 論

人型、牛型結核菌の静脈内感染によるマウス臓器内における結核菌生菌の消長を観察し、次のような結論を得た。

- 1) 分離後継代培養の古い結核菌は著者等が前報告で定義した意味において、毒力は弱く、新しいものほど毒力は強い。
- 2) 「モルモット」に対する毒力の強いものほど「マウス」に対しても毒力が強い。
- 3) 本実験の結果結核菌各株間に示された成績の相違は菌型の差よりは分離後継代培養の期間の相違によるものであると考えられる。

引用文献

- 1) 染谷四郎外：結核菌の毒力に関する研究（第1

- 報)、結核 24 (昭和 24)、11~17
- 2) 染谷四郎、川村達、江頭清之 : 結核菌の毒力に関する研究 (第 2 報)、結核に掲載の予定、(昭和 25 年 5 月、第 25 回日本結核病学会総会報告)
- 3) W. Strempel : Über die Tuberkulose der weissen Maus. 1 Mitteilung : Versuche zur Typendifferenzierung. Zeitschr. f. Tbk., 71. (1934) 1~2
- 4) R. Bequignon : Tuberculöse Infektion der weissen Maus, Zeitschr. f. Hyg., 83 (1939), 44~51
- 5) M. B. Lurie : The correlation between the histological changes and the fate of living tubercle bacilli in the organs of tuberculous

- rabbits, J. Exper. Med, 55 (1932), 31~39.
- 6) C. C. Wessels : Tuberculosis in the Rat,
 II The fate of tubercle bacilli in the various organs of the rat, Am. Rev. Tuberc., 43 (1941), 459~474.
 III The correlation between the histological changes and the fate of living tubercle bacilli in the organs of the albino rat, Am. Rev. Tuberc., 43 (1941) 637 662.
- 7) 小川辰次 : 結核菌の定量培養法に就て、(其の 2)、動物臓器よりの培養。結核、24 (昭和 24) 19~24。

糞便内結核菌の培養について

結核予防会結核研究所(所長 隈部英雄)

工藤 祐 是

緒 言

糞便に排出される結核菌を検出しようとする試は古くからあるが、単純塗抹標本では成績不確実で、特に他の抗酸性雑菌との鑑別が困難である。更に集菌法を行えば検出率は向上するが鑑別の点では同様であり、熟練しなければ成績が変動しやすい欠点がある。従つて培養によるのが望ましいのであるが、糞便は喀痰その他の材料に比すれば、雑菌の汚染度が遙かに高く、加えて、消化液や他の雑菌の影響により、結核菌自体の生活力も低下してると考えられるので、この様な状態の結核菌を分離培養することは、相当困難な手技に属する。Petroff¹⁾が最初に喀痰菌陽性者 32 例中 19 例の糞便内菌陽性者を得たが、その後鶏卵培地に硫酸やアンチフォルミンを用いる様になつてもなお成績は余り良好でなく、多くの研究者は不成功、乃至は否定的であつた。その後本邦に於て、小川氏²⁾、尾高氏³⁾及びその変法⁴⁾⁵⁾が現われ、總体的にその価値が認められて来たが、現在、良法と考えられ本邦にて比較的広く用いられているこれらの方法も、菌の陽性率及び雑菌発生率の上から決して、満足すべきものとは言ひ難く、また操作も煩雑と思われるものが多い。更にこれらの方法では、菌の消長を定量的に観察するには甚だ不便である。排出される菌を定量的に追求することは、喀痰との相関に於いて腸病変の推定

や、化学療法の効果判定に対する一助ともなる故、出来得れば定量的な操作が望ましい。茲に於いて近時、小川氏の唱えるアルカリ処置による流注培養法⁷⁾⁸⁾が、喀痰内結核菌の定量培養に際して好結果を与えているのに鑑み、糞便の培養にも、かかる考案を導入すべくその前処置剤を分析的に検討し、これより一案を得たが、従来の方法に比較した結果、所期の目的に対して相当満足すべき成績を得たので、敢えて発表し諸賢の御批判と御追試を仰ぐ次第である。

実 験

定量的であること、及び操作の簡便なることを期したので、浮游法や吸着法は不適當で、結局均質化して流入せしめる方法を撰んだが、雑菌の発育を最低限度に止め且つ結核菌の障碍を小ならしめるよう、従来色素消毒剤を用いる方法に稍工夫を加え、且つ均質化の点で優れているアルカリを用いこれに適合した 3%第一磷酸加里培地⁹⁾を用いることにした。この培地は吾々の処で喀痰を 4%苛性ソーダ液で処置して、その 0.1c.c. を流入する定量培養法に使用しているものである。内容は第 I 表の通りである。この場合特に考慮すべきは、白金耳で塗抹する場合と異り、前処置剤に混和されたものを、そのまま流入することになるので、前処置剤が多量に長いこと培地面に存在する故、雑菌発生は少くなるであら