

を思わしめる。晩期型では一般に興奮性の低下の傾向が著しく、殊にツルバングルハルトの分類の第三度のものでは特に著しく低下し陰性のものが 26.5% に及ぶ。

3. 症状の分類はアメリカ法により示したが症状の増悪に従つてアドレナリンに対する興奮性の低下を示している。

4. アドレナリンによる発汗能は病的発熱により、かえつて低下の傾向を示している。38°C 以上を示せるものは 32% も陰性を呈している。

5. 赤沈促進の著しき者程、アドレナリン閾値検査の結果は、興奮性の低下を認める。

6. 盗汗の有無とアドレナリン発汗能の強弱との間には統計学的に明らかに有意の差が認められ、盗汗を有するものの方がかえつて、アドレナリンに対する反応性が低下している事がある。

7. 20 歳より 40 歳までの肺結核患者 147 例の血圧と、汗腺のアドレナリン閾値との相関比は  $\eta = +0.46$  で、低血圧を示すものはアドレナリンに対する興奮性弱く、これに反して血圧の高いものは強い傾向を示している。

8. ツベルクリン皮内反応の陰陽強弱とアドレナリン

閾値との間には正相関 ( $\eta = +0.51$ ) が認められ、ツベルクリン陰性化する重症者は閾値高く、これに反してツベルクリン強陽性者はアドレナリンに対する興奮性も強い傾向が認められる。

(本研究費の一部は文部省科学研究費による。)

## 主要文献

1. 木村：東北医誌、1949、40 卷 1~2 号 33 頁。
2. 和田、高垣：Tohoku, J. Exp. Med., 1948, 49, 284.
3. 熊谷：日本内科誌、20 卷 1 号 84 頁 昭. 7.
4. F.M. Pottenger : Amer. Rev. of. Tbc, 1922, 6, 621.
5. Dresel : Dent. med. Woch., 1919, 35, 955.
6. Löwy, J. : Med. Kli., 1914, 1647.
7. E. Guth : Beitr. z. Klinik d. Tbc, 1925, 60, 56.
8. K. Käding : Mün. med. Woch., 1924, 8, 225.
9. 青木：中外医事新報、大. 11. 1011 号 533 頁。
10. 渡辺：結核、昭. 5. 8 卷 2 号 83 頁。

## Streptomycin の抗結核菌作用と結核菌の發育環との關係 について

東 村 道 雄

### 1 緒 言

Streptomycin が抗結核剤として現在最もすぐれたものであることは何人もこれを認めている処であり、Streptomycin の抗結核菌作用 (in vitro) については Smith & Waksman<sup>(1)</sup> をはじめ数人の著者による報告があり、我が国でも小川、工藤<sup>(2)</sup> によつて追試されている。しかしながら一方、結核菌に一定の發育環があり、結核菌の形態が抗酸性桿菌のみではないことはすでに疑う余地がない。すなわち Marmorek<sup>(3)</sup> は幼弱な培養または古い培養の幼弱部が非抗酸性であることを見出し、Suyenaga<sup>(4)</sup> は抗酸性は成熟を示すものであり、通常の培養では非抗酸性の時期は非常に短いと述べた。

Bezançon, Philibert et Hauduroy<sup>(5)</sup> は結核菌菌膜の切片標本を観察して、幼弱結核菌が多いと考えられる周辺部には非抗酸性型が多く、成熟結核菌が多い菌値と

考えられる中心部に近づくにつれて抗酸性型が多くなることを認めて結核菌の發育過程を推測し、Kahn & Nonidez<sup>(6)</sup> も結核菌菌膜及び集落の切片標本を作つて、非抗酸性桿菌及び顆粒の存在を認め、非抗酸性顆粒から非抗酸性桿菌、非抗酸性桿菌から抗酸性桿菌への發育過程を推測した。

Thuringer & Butler<sup>(7)</sup> も殆んど同様の実験を行つている。我が国でも吉田<sup>(8)</sup>等が結核菌の幼弱型が非抗酸性であることを確めているが、最近植田<sup>(9)</sup>は結核菌の發育環に関する研究を行つて、非抗酸性顆粒から非抗酸性糸状型、非抗酸性糸状型から非抗酸性桿菌となつて非抗酸性顆粒に帰る發育環を提唱し、抗酸性桿菌は非抗酸性桿菌が変性して發育能力を失つたものであると主張して注目を引いたが、抗酸性桿菌が發育能力をもたぬとした点になお異論がある様である。また結核菌の發育形式については Kahn, 中村、許、占部等の研究、濾過型及び Much

顆粒から観た発育環については Fontes 以来数多の研究があるが、この報告とは直接の関係がないので省略する。ともかく結核菌の発育環の細部についてはなお議論があるが、結核菌の発育環の存在についてはこれを疑う人はない。ひるがえつて結核菌に対して今日最も有効で最も重要な抗生物質である Streptomycin が結核菌の発育環に対して如何なる作用を及ぼすか、発育環の如何なる部分に対して最もよく作用するか（発育環のどの過程が Streptomycin に最も感受性が高いか）ということとは重要且つ興味あることと考えられる。

換言すれば幼弱型と考えられる非抗酸性型からの発展と、成熟型と考えられる抗酸性型からの発展との二つの過程に Streptomycin 感受性の差があるかどうかということがまず問題として提起される。(植田は抗酸性桿菌からの発育は認められないと述べているが、多くの研究者は抗酸性桿菌から非抗酸性型が発育することを認めており、著者もまた Ziehl-Neelsen 染色によつて観察する時には、抗酸性桿菌から非抗酸性桿菌又は非抗酸性顆粒が発芽してくることをこの研究においても、また発育環に関する別の実験<sup>(10)</sup>に於いても確認することが出来た。)しかるに Streptomycin の抗結核菌作用に関するこれまでの報告には結核菌の発育環との関係について述べたものは存在しない。そこで著者は Streptomycin の抗結核菌作用と結核菌の発育環との関係に就いて研究し、併せて結核菌の発育環についても観察を加えてみようと考えて以下の実験を行つた次第である。(註、中村<sup>(11)</sup>はサポニンで非抗酸化した非病原性抗酸性菌の Streptomycin 感受性について述べているが、結核菌の発育環の一環としての自然の非抗酸性結核菌については触れていない。)

## 2 実験方法、実験成績並びに考按

被検菌としては実験に便利な鳥型結核菌を使用した。以下の実験はすべて鳥型結核菌調株(伝研長谷川研究室から分与していただいたもの)を使用した。

3% Glycerinbouillon (pH 7.0) で Streptomycin Merck (Calcium chloride complex) を 2.0cc を規準として倍数稀釈し、これに 3% Glycerinbouillon (pH 7.0) に 37°C 24 時間培養の非抗酸性型菌及び 3 日または 8 日培養の抗酸性型菌を、培地を振盪して作つた懸濁液から 1 白金耳宛接種して 37°C に 48 時間培養して発育阻止濃度を判定すると、24 時培養の非抗酸性型菌接種では 0.16 µg/cc, 3 日培養の抗酸性型菌接種では 0.62 µg/cc, 8 日培養の抗酸性型菌接種では 2.5 µg/cc で発育が完全に阻止される。この所見は一見幼若結核菌(非抗

酸性)の方が Streptomycin に対して感受性が強いような印象を与えるけれども、幼若結核菌の場合では接種菌数が著しく少ないのであるから以上の結果を直ちに肯定するわけにはいかない。(Streptomycin の結核菌作用が被検菌量によつて異なることについては Smith & Waksman<sup>(12)</sup>が述べているところであり、小川、工藤<sup>(9)</sup>もまたこれを追試して認めている。また小川、工藤は Streptomycin は菌の発育の時期が早い時程よく発育を阻止するが、菌が発育してくるに随つて阻止作用は減つてくると述べているが、この実験は菌数を考慮していないので、菌の発育時期との具体的な関係はこの実験から導くことはできない。また勿論氏等は非抗酸性・抗酸性等の形態的变化との関係について述べているのではない。)

### (A) 実験その 1

そこでまず次のような方法をとつて可及的接種菌量を等しくし、結核菌の非抗酸性型、抗酸性型の条件を明らかにして結核菌発育環と Streptomycin 感受性との関係について検索を試みた。pH 7.0, Glycerine agar (3% Glycerine, 0.5% Polypeptone, 0.5% Meat extract, 1.5% Agar) を溶解して 50°C とし、この培地で Streptomycin Merck (Calcium chloride complex) を倍数稀釈し室温放置 1 時間により斜面に固める。被検菌としては pH 7.0, Sauton 寒天斜面培地 (Asparagin の代りに Sodium glutamate を用い 3% の割合に Agar を加える。) に 37°C 24 時間及び 9 日培養の鳥型結核菌調株を用い、各々白金耳を集落に軽くふれて、Streptomycin 含有 Glycerine agar の系列に塗抹し 37°C に培養して毎日観察した。

この被検菌の 24 時間培養のものは、非抗酸性顆粒及び非抗酸性桿菌から成り、9 日間培養のものは抗酸性桿菌及び抗酸性顆粒の連続体、それに少量の非抗酸性顆粒及び非抗酸性桿菌から成り立つていることを鏡検して確認して使用した (Ziehl-Neelsen 染色: Ziehl 液加温染色 2 分、3% 塩酸アルコール 30 秒、Löffler の Methylene blue 液 1 分による)。その結果は第 1 表のとおりであつて 2~5 日後に判定すれば非抗酸性菌接種の時の完全発育阻止濃度は 1.25 µg/cc で、抗酸性菌接種の時の完全発育阻止濃度は 0.32 µg/cc となり、10 日後に判定すると、前者は 2.5 µg/cc、後者は 0.32 µg/cc となる。すなわち非抗酸性菌接種の時よりも抗酸性菌接種の時の方が Streptomycin に対してより鋭敏であつて、より強力な発育阻止作用を受けることになる。

### (B) 実験その 2

更に上述の所見を確めるために Sauton 寒天斜面 2

第 1 表

被 検 菌 培養日数 μg/cc	非 抗 酸 性 型 (Sauton 寒天斜面 24 時間培養)				抗 酸 性 型 (Sauton 寒天斜面 9 日培養)			
	1	2	5	10	1	2	5	10
10.0	—	—	—	—	—	—	—	—
5.0	—	—	—	—	—	—	—	—
2.5	—	—	—	—	—	—	—	—
1.25	—	—	—	+	—	—	—	—
0.63	—	+	+	卅	—	—	—	—
0.32	+	卅	卅	卅	—	—	—	—
0.16	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
0.08	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
0.04	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
0.02	+	卅	卅	卅	+	卅	卅	卅

第 2 表

被 検 菌 培養日数 μg/cc	非 抗 酸 性 型 (Sauton 寒天斜面 2 日培養)				抗 酸 性 型 (Sauton 寒天斜面 7 日培養)			
	2	3	4	7	2	3	4	7
10.0	—	—	—	—	—	—	—	—
5.0	—	—	—	—	—	—	—	—
2.5	—	—	—	—	—	—	—	—
1.25	—	—	—	—	—	—	—	—
0.63	—	—	—	—	—	—	—	—
0.32	—	—	—	卅	—	—	—	—
0.16	卅	卅	卅	卅	—	—	—	—
0.08	卅	卅	卅	卅	—	+	卅	卅
0.04	卅	卅	卅	卅	—	+	卅	卅
0.02	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅

日培養の Methylene blue 濃染及び淡染の非抗酸性桿菌及び少量の顆粒と、Sauton 寒天斜面 7 日培養の Fuchsin 濃染及び淡染の抗酸性桿菌とを被検菌として実験を行った。この実験では各々の被検菌は湿菌量で 4 mg/cc の蒸留水浮游液として各々 1 白金耳宛塗抹した (白金耳の外径 3.5 mm, 内径 2 mm)。その結果は第 2 表のとおりであつて前の実験結果を裏書きし、非抗酸性桿菌を接種した時よりも抗酸性桿菌を接種した時の方が最小完全発育阻止濃度が小であり、すなわち抗酸性桿菌接種の時の方が Streptomycin に鋭敏に作用されることを示している。すなわち 2 日後に判定すると非抗酸性菌接種の時の最小完全発育阻止濃度は 0.32 μg/cc であり、抗酸性菌接種の時の最小完全発育阻止濃度は 0.04 μg/cc であり、7 日後に判定すると前者は 0.63 μg/cc、後者は

0.16 μg/cc である。

37°C 3 日後に各培地から塗抹標本を作ると、対照及び低濃度の Streptomycin 含有のものでは、非抗酸性桿菌を接種した時でも、抗酸性桿菌を接種した時でも、強弱抗酸性桿菌を主成分としているのに、抗酸性桿菌接種群の 0.02~0.08 μg/cc の Streptomycin 含有培地の小集落からの標本は、抗酸性桿菌の点在する周囲に非抗酸性顆粒及び非抗酸性桿菌の集合体乃至連鎖状結合様のものが発育している像を示す。これは 7 日後にはいずれも強乃至弱抗酸性桿菌を主とし、僅かに非抗酸性型を混える集落に発展している。すなわち 0.02~0.08 μg/cc の領域では抗酸性桿菌から非抗酸性菌が発育するのは対照より遅延するけれども、一旦抗酸性桿菌から非抗酸性菌が発芽すると、その後の発育は殆んど阻止を受けないもの

と考えられる。

一方、非抗酸性桿菌を接種した群の  $0.16\sim 0.32\mu\text{g}/\text{cc}$  の試験管の集落から7日後に標本を作つてみると、僅少の抗酸性桿菌が散在する周囲に非抗酸性（一部微弱抗酸性）の網状構造物が発育している像が認められる。この少数の抗酸性桿菌は恐らく接種した非抗酸性桿菌から由来したものを主としたものであろうと考えられ、周囲の広い非抗酸性網状構造物は接種した非抗酸性桿菌から発達したものと解される（この  $0.16\sim 0.32\mu\text{g}/\text{cc}$  の濃度では抗酸性桿菌からの発育が阻止されるという前の事実から、接種した非抗酸性桿菌が一旦抗酸性桿菌となつて、そこから非抗酸性網状構造物が発育したのではなく、接種した非抗酸性桿菌から直ちに非抗酸性網状構造物が発育し、その後で接種した非抗酸性桿菌及びそれより由来したものの一部が抗酸性桿菌に変つたものと解される）。すなわち上述の実験法で7日間の観察では、非抗酸性菌から非抗酸性菌が発育増殖する過程は  $0.63\mu\text{g}/\text{cc}$  以上の濃度の Streptomycin によつて完全に発育を阻止され、 $0.32\sim 0.16\mu\text{g}/\text{cc}$  の濃度の Streptomycin によつては発育を遅延され、 $0.08\mu\text{g}/\text{cc}$  以下の濃度の Streptomycin によつては殆んど作用を受けないと考えられる。また抗酸性桿菌から非抗酸性菌が発芽する過程は  $0.16\mu\text{g}/\text{cc}$  以上の濃度の Streptomycin によつて完全に発芽を阻止され、 $0.08\sim 0.02\mu\text{g}/\text{cc}$  の濃度の Streptomycin によつて発育を遅延され、 $0.01\mu\text{g}/\text{cc}$  以下の濃度の Streptomycin によつては殆んど作用を受けないものと考えられる。すなわち非抗酸性菌から非抗酸性菌が発育増殖してゆく発育過程と、抗酸性桿菌から非抗酸性菌が発芽する過程とを比較すると、後者の方が前者よりも Streptomycin 感受性が高いことになる。

以上の実験成績から、抗酸性桿菌から非抗酸性菌が発芽し、この非抗酸性菌が更に分裂増殖して非抗酸性菌を生じてゆき、後に抗酸性桿菌となるという結核菌発育環が考えられ、Streptomycin は抗酸性桿菌から非抗酸性菌が発芽する過程をより強く阻止し、非抗酸性菌から非抗酸性菌が発育増殖してゆく過程に対しては前の過程に対する阻止作用に比較すると、阻止作用が弱いものと考えられる。

註(1)抗酸性菌を接種した場合の  $0.02\sim 0.08\mu\text{g}/\text{cc}$  の Streptomycin 濃度で発育遅延作用が認められると述べたが、これは対照が3日後に抗酸性桿菌から非抗酸性菌を発芽し、更に発展を続けて既に大部分が抗酸性菌となつてしまつているのに、 $0.02\sim 0.08\mu\text{g}/\text{cc}$  の Streptomycin の存在するもとは、3日後に非抗酸性菌を主とする小集落を発生した状態であることを遅延としたので

ある。また非抗酸性菌を接種した時の  $0.16\sim 0.32\mu\text{g}/\text{cc}$  の Streptomycin 濃度で発育遅延が認められるとしたのは、対照が非抗酸性菌から次々と発育増殖して既に大部分抗酸性菌となつてしまつているのに、 $0.16\sim 0.32\mu\text{g}/\text{cc}$  の Streptomycin を含む培地では、非抗酸性菌が増殖してはいるがまだ大部分が非抗酸性のままどまつているのを発育遅延と認めたのである。すなわち此処でいう遅延作用は単純な意味で用いたものである。比較的高濃度の Streptomycin に耐性を示す結核菌の菌数が少ないことは当然考えられることで、これが遅延作用の本態かもしれないと想像される。

註(2)以上の実験によつて認められる Streptomycin の発育遅延作用は、完全発育阻止濃度に続く狭い範囲において認められるだけであり、別報するサルファ剤の場合に完全発育阻止濃度以下の広汎な範囲で発育遅延作用が認められるのとは趣きを異にしている。Streptomycin の発育遅延作用域は認められぬ時もある。

註(3)著者は上述の観察から結核菌の発育環として非抗酸性菌が非抗酸性菌を生じて次々と増殖してゆくとともに、古いものが漸次抗酸性型となつてゆくことを認めた点では植田と略々一致する結果を得た。しかしながら抗酸性型菌が既に発育能力を失つたものであるとする氏の見解には賛成出来ない。すなわち著者は抗酸性顆粒連続から非抗酸性菌が発生するのを認めたことはないが、抗酸性桿菌から非抗酸性菌が発芽することを認め得た。

### (C) 実験その3

この実験では液体培地で検定することとし、被検菌も Glycerinbouillon 培養のものを使用した。被検菌としては、鳥型結核菌獣調株の Glycerinbouillon  $37^{\circ}\text{C}$  24時間培養のもの及び3日間培養のものを使用した。両者ともに2,000回30分遠心して菌体を集め、一部を染色鏡検して前者が非抗酸性桿菌、後者が抗酸性桿菌（少数の非抗酸性桿菌を混じている。）であることを確かめた後、滅菌蒸留水で  $4\text{mg}/\text{cc}$  の菌浮游液を作製した。Streptomycin Merck (Calcium chloride complex) は  $\text{pH} 7.0$ 、3% Glycerinbouillon で各試験管  $2.0\text{cc}$  を規準として倍数稀釈し、 $5.0\mu\text{g}/\text{cc}$  から  $0.01\mu\text{g}/\text{cc}$  の系列を作つて、各々に上記の菌浮游液から1白金耳宛接種して、 $37^{\circ}\text{C}$  に培養して毎日観察した。その結果は第3表に示すとおりであつて上記2回の実験を裏書きするものであつた。すなわち24時間後には、非抗酸性菌接種の方は、 $0.08\mu\text{g}/\text{cc}$  以下の濃度の試験管に管底発育を示したのに対して、抗酸性菌接種の方は  $0.02\mu\text{g}/\text{cc}$  以下の濃度の試験管に管底発育を認めた。48時間以後にはこれらはいずれも抗酸性桿菌から成る菌膜に発展した。すなわ

第 3 表

被 検 菌	非 抗 酸 性 型 (Glycerinbouillon 24 時間培養)				抗 酸 性 型 (Glycerinbouillon 3 日培養)				
	培養日数	1	2	4	7	1	2	4	7
μg/cc									
5.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1.25	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.63	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.32	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.16	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.08	+	+	+	+	—	—	—	—	—
0.04	+	+	+	+	—	—	—	—	—
0.02	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.01	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+……管底発育

+……薄い菌膜を形成

+……厚い菌膜を形成

ち非抗酸性菌からの発育の方が、抗酸性菌からの発育よりも Streptomycin 感受性が低いと考えられ、かつ、この場合には完全発育阻止濃度以下の試験管での菌の発育は、対照の発育と略く同様であつて、いわゆる発育遅延帯は認められなかつた。

### 3 結 論

(1) 鳥型結核菌の発育環において、非抗酸性型から非抗酸性型が発育増殖する過程は Streptomycin 感受性が比較的強く、抗酸性桿菌から非抗酸性型が発芽する過程は Streptomycin 感受性が比較的弱い。

(2) Streptomycin の完全発育阻止濃度と発育阻止の影響を全然受けない濃度との幅は狭く、かつ、この幅を認め得る時には、この間隔の濃度で発育遅延作用が認められる。

(3) 鳥型結核菌の発育増殖過程として、抗酸性桿菌から非抗酸性菌が発芽する過程と、非抗酸性菌から非抗酸性菌が発育増殖する過程とがあることを認めた。すなわち結核菌の発育環として抗酸性桿菌から非抗酸性菌を生じ、この非抗酸性菌が順次非抗酸性菌を生じてゆくとともに陳旧なものから順次抗酸性桿菌に変じてゆく発育環が考えられる。

この研究は国立療養所大府荘ではじめ、国立松山病院で続いて研究を行つた。御後援を賜つた勝沼六郎博士に感謝の意を表する次第である。

### 文 献

- (1) Smith & Waksman : Journ. of Bact., 54 : 253, 1947.
- (2) 小川、工藤 : 結核, 25 : 490, 1950.
- (3) Marmorek : Zeit. Tuberk., 1 : 444, 1950.
- (4) Suyenaga : Amer. Rev. Tuberc., 3 : 473, 1919 : 13 ; 550, 1926.
- (5) Bezançon, Philibert et Hauduroy : Compt. Rend. Soc. Biol., 90 : 475, 1924.
- (6) Kahn & Nonidez : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 30 : 577, 1933.
- (7) Thuringer & Butler : Amer. Rev. Tuberc., 31 : 466, 1935.
- (8) 吉田 : 結核, 16 : 1263, 昭和 13 年.
- (9) 植田 : 結核, 24 : 185, 1949.
- (10) 東村 : 結核に発表の予定.
- (11) 中村 : 結核, 24 : 223, 1949.