

び述べる)。また遊離した非抗酸性顆粒の大部分が非抗酸性桿菌の特殊な場合と考えられることは既に述べたとおりである。植田は非抗酸性菌から非抗酸性菌を生じる過程を結核菌の発育環であるとしており、また一方抗酸性桿菌から非抗酸性菌が発芽することが旧くから認められているのであるが、著者は以上の結果からこの二つの過程の連続したものが結核菌の主発育環を形成するものであると考える次第である。また発育の先端に必ずしも非抗酸性型が認められないという事実は植田の説に対する難点であつたが、以上の三つの過程の連続が発育環であるとなれば、この状態は抗酸性桿菌から非抗酸性菌を生じる前時期と考えられる。またたとえば Glycerinbouillon に抗酸性菌を1白金耳接種すると、まず非抗酸性菌を生じて、非抗酸性菌から非抗酸性菌を生じる発育形式が認められるが、時間が経過し菌数が増加するとともに抗酸性菌が大部分を占めるようになり、抗酸性菌から非抗酸性菌(または弱抗酸性菌)を発芽する発育形式が行われることとなるのであるが、このように発育の形式は条件によつて異なり、上述の3過程が常にそのまま起るものではなく、時には(1)(2)が行われ、また時には(2)(3)が行われるものと考えられる。要するに結核菌は非抗酸性型から抗酸性型へと不可逆な変化をしながら増殖を続けているように考えられ、幼若な時期にも成熟した時期にも新しい菌を発生し得るものであるが、種々の条件によつて非抗酸性型から抗酸性への変化の速度に差があつて複雑な様相を呈しているものと思われるのである。また結核菌の発育は主として発芽ともいふべき様式で行われ、次々と年老いた菌が残つてゆくことも事態を複雑にしている原因であらう。なおこの年老いた菌が新しい培地に移された時に発育能力を示すかどうかということが問題

として残されよう。

#### 4 結 論

(1) 結核菌の発育環の一環として非抗酸性桿菌から非抗酸性桿菌を発生増殖する過程がある。

(2) 非抗酸性桿菌は時間の経過とともに抗酸性桿菌に変化する。

(3) 抗酸性桿菌は発育能力を有しており、結核菌の発育環の一環として抗酸性桿菌から非抗酸性桿菌を発生増殖する過程がある。

(4) 結核菌の発育環の主要過程は桿菌から桿菌を生じる形式で行われ、上述の(1)(2)(3)の3過程を(1)(2)(3)の順序に連ねた環であると考えられる。

(5) Ziehl-Neelson 染色法で観察される非抗酸性顆粒の中には、非抗酸性桿菌に発育する前段階と考えられるものがあり、また生菌では桿菌であるものが染色による顆粒型にみえるようになるものがある。

(6) Fuchsin で一様に染まる抗酸性桿菌は時間の経過とともに菌体内に1~数ケの非抗酸性顆粒を有する抗酸性桿菌に変化するか、または抗酸性顆粒の連続体に変化するものと考えられる。

#### 文 献

- (1) Fontes : Beitr. Z. kl. Tuberk., 77 : 2, 1931.
- (2) Bezançon, Philibert et Hauduroy : Compt. Rend. Soc. Biol., 90 : 475, 1924.
- (3) Kahn & Nonidez : Proc. Soc. Exptl. Biol & Med., 30 : 577, 1933.
- (4) 植田 : 結核24 : 185, 1949.
- (5) 河盛、弘末 : 結核24, 228, 1949.

## 流動パラフィン結核加熱死菌ワクチンの研究

### (第二報) 動物実験よりみた抗元性感染防禦性について

国立予防衛生研究所結核部(部長 柳沢 謙)

金 井 興 美 志 賀 康 夫  
伊 藤 文 子

#### I 緒 言

本研究第一報に於て我々は流動パラフィン結核加熱死菌ワクチンの毒力に就いて発表し、このものが生食水浮遊の加熱死菌ワクチンに比して毒力の強い事を認めたの

であるが、その原因として流パラによつて菌の生体内存続期間の延長という点を取り上げた。又その毒性も接種量又は接種方法によつて適当に調節し得る事も明となつたので、流パラ死菌ワクチンの生ずるツベルクリンアレルギー及び感染防能態に就いて実験を行い、その成績を

第1表 結核加熱死菌を流動パラフィン又は生理的食塩水に浮遊さして接種した際のモルモットに於けるツベルクリンアレルギー

媒液	菌熱死菌(加)	接種方法	モルモット番号	初体重	ツベルクリンアレルギー			
					2週目	4週目	8週目	12週目
生理的食塩水	有 毒 人 型 菌 渡 辺 株	30mg 左 大 腿 筋 内 接 種	301	350	10×8	15×20	13×14	0
			302	400	10×9	6×7	0	0
			303	410	12×13	8×8	0	6×5
			304	370	3×4	13×14	8×8	0
			305	430	0	0	0	0
			306	390	5×5	0	8×7	6×6
			307	450	0	8×8	10×10	11×11
			308	410	4×4	10×10	0	0
流動パラフィン	B G G	0.1mg 皮内(左下腹部)	351	440	12×12	23×23	28×26	16×16
			352	470	7×7	18×18	23×20	17×18
			353	420	8×8	19×20	24×25	21×21
			354	400	7×7	20×20	23×24	28×28
			355	370	8×8	16×16	27×24	25×23
	有 毒 人 型 菌 渡 辺 株	0.1mg 皮内(左下腹部)	356	370	10×12	20×17	22×23	25×25
			357	330	22×20	23×22	18×18	23×23
			358	350	18×18	22×20	30×28	27×25
			359	360	15×14	16×16	28×27	23×23
			360	400	17×17	26×26	28×25	13×13
	濃度 10mm × 10mm の十字 の乱切 3回 60mg1cc	(左下腹部)	361	490	10×11	15×16	24×22	20×23
			362	550	7×7	10×16	24×21	20×21
			363	410	0	0	21×16	13×18
			364	580	13×11	10×11	26×22	23×23
			365	515	15×14	16×16	11×11	15×16
		0.5cc 皮 下	371	350	0	0	0	0
			372	400	0	0	0	0
			373	410	0	0	0	0
			373	420	0	0	0	0
			375	360	0	0	0	0

註 (1)ツベルクリンアレルギーは100倍稀釈旧「ツ」を用い、0.1cc皮内注射後24時間で判定し、硬結の長短径をmmで記載した

第二報として報告する。

II 実験方法及び実験成績

1) 流バラ結核加熱死菌ワクチン接種によるツベルクリンアレルギー(以下「ツ」アと略す)に就いて

加熱結核死菌の生食水浮游菌液接種に依つて生ずる「ツ」アは極めて微弱か不規則で恒常性に乏しく且つ永続性のないものであるが、これをパラフィン中に包埋して接種するならば極めて強い感作を動物に与える事を Conlaud が発表して以来、この事はこの方面に於ける多くの研究者によつて確認せられた。我々は比較的少量の流バラ死菌接種又は乱切接種法によつても強い、感作をモルモットに与え得る事を経験した。

実験方法

菌株としてBCG及び有毒人型菌渡辺株を用い、型の如く流バラ死菌ワクチンを夫々1mg/ccの濃度に調整し、渡辺株に就いては更に60mg/ccの生食水及び流バラ浮游の加熱死菌ワクチンを作つた。かくして第1表の如く夫々数匹のモルモットを使用し皮内接種法又は乱切法を用いて接種し、生起する「ツ」アを12週後迄100倍稀釈旧ツを用いて追求した。

成績

第1表に示した結果は第一に生食水浮游の結核死菌が30mgも接種されているにもかかわらずその「ツ」反応陽転効果の著しく悪い事を表現している。それに比して、

接種量は30分の1であるのに、流バラ死菌は規則的に強い感作を与えている。又乱切法によつても相当良効な陽転を示す点は接種局所の変化の少い点と共に実用的価値を暗示する点である。

2) 流バラ死菌接種による感染防禦力に就いて

実験 A

実験方法

ソートン培地上2週培養BCGを用いて型の如く流バラ死菌ワクチン1mg/ccを調製し、これを8匹の健康モルモットに0.1ccずつ左下腹部皮内に接種した。又同時に流バラのみを同様接種したモルモット5匹を対照として、7週間飼育した。7週目に有毒人型菌 Frankfurt 株のグリセリン馬鈴薯上20日培養のもの0.1mgを以て右下腹部皮下に感染した。この際対照として7匹の健康モルモットに同様接種した。かくして更に7週後に解剖して肉眼的に病変を比較し、又脾の定量培養を行つてみた。これは脾の一部を切除し9倍量の2%苛性ソーダを加えつつ乳鉢中で磨砕し均等液としてから0.1ccずつ小川の培地4本に接種し37°Cで4週培養しその集落数を以て記載した。

成績

第2表に明な如く流バラ死菌免疫群は対照群に比較して著明な感染防禦を示している。実験動物中5匹は実験経過中死亡せるか又は解剖に際して肺炎(連鎖球菌性)の治癒せる変化があるため表中より除外した。

第2表 流動パラフィンBCG加熱死菌ワクチンの感染防禦力試験(1)

群 別		(1) 前 処 置 せ ず					(2) 免 疫 群						(3) 流バラのみの接種群			
モルモット番号		110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124
感染前ツベルクリン反応(1:100)		0	0	0	0	0	22 × 18	17 × 18	16 × 16	12 × 12	16 × 15	17 × 18	0	0	0	0
解剖前ツベルクリン反応(1:100)		26 × 25	16 × 16	20 × 20	17 × 13	20 × 20	23 × 21	18 × 18	17 × 14	24 × 22	23 × 23	21 × 21	17 × 17	15 × 15	26 × 20	18 × 18
感染後解剖迄の体重増減		- 50	- 20	+ 10	+ 10	- 10	+ 90	+ 55	+ 90	+ 140	+ 195	+ 60	+ 30	- 80	+ 5	- 10
接種局所		A	A	A	A	A	A	-	A	A	-	A	A	-	A	-
淋	膝 髌	左	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	右	⊕	-	⊕	⊕	+	⊕	-	-	+	⊕	-	+	⊕	⊕	⊕
巴	鼠 蹊	左	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	右	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-
腋 窩		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

腺	後腹	左	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		右	⊕	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	肝門		⊕	+	⊕	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	⊕	-
	気管		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	後胸骨		⊕	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
内	肺	左	冊	+	冊	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
		右	冊	+	冊	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
	肝		冊	冊	冊	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	冊	+
	脾		冊	冊	冊	+	冊	+	-	-	冊	+	冊	冊	冊	冊	冊
	脾重		1.8	0.8	1.4	0.7	1.0	0.9	1.3	0.8	0.8	1.0	1.2	1.1	0.9	1.2	1.6
	臓	脾培養管番号	1	358	92	280	5	113	2	2	0	43	2	0	1	13	145
2			259	100	129	2	116	0	9	0	73	3	0	0	15	220	92
3			350	103	163	3	127	1	8	0	62	1	0	3	9	123	35
4			394	100	174	4	91	0	0	0	83	6	0	4	18	150	139
腎	左	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	右	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

註 (1) 内臓 { - 病変なきもの  
+ よくさがして見出し得る程度の結節  
冊 一見して数個の結節  
冊 多数の結節  
冊 非常に多数の結節

(2) 淋巴腺 { - 無腫脹  
+ 疑しきもの  
+ 小豆大迄の腫脹  
+ 大豆大迄の腫脹  
冊 それ以上の腫脹  
○ 乾酪化を示す

(4) 接種局所 { A 膿瘍  
G 潰瘍  
K 痂皮

(5) ツベルクリンアレルギー(「ツ」ア)は 100 倍稀釈旧ツベルクリンの 0.1 cc 皮内接種後 24 時間判定によつた

実験 B

実験方法

60mg/cc の流バラ渡辺様死菌ワクチンを乱刺法を以て接種した。10匹の健康モルモットを使用し実験群 I とした。又生菌 BCG 80mg/cc のワクチンを同じく乱刺法を以て接種し健康モルモット 8 匹を使用して実験群 II とした。

乱刺は左下腹部に於て、抜毛後ワクチンを塗布しその上を 2 分の 1 の注射針の先端を以て軽くひつかゝる程度に刺す事 20 回程、後再びワクチンを塗布しよくすり込んだ。その範囲は約 1.5 cm 直径の円の大きさとした。猶使用せる流バラ死菌ワクチンは調製から 1 年間室温に保存したものである。生菌 BCG ワクチンはソートン培地上 10 日発育のものを手振法で調製したものである。免疫後 7 週目に Frankfurt 株のグリセリン馬鈴薯上 20 日発育の菌を 0.1 mg 右下腹部皮下に接種感染させた。対照として健康モルモット 10 匹に同様接種して 7 週後解剖し病変の程度を肉眼的に記載比較した。

成績

第 3 表にまとめた結果は流バラ死菌接種群及び生菌 B

CG 免疫群共に著しい感染防禦を示した事を物語っている。即ち対照群に於て、脾に於ける病変は所謂 nodular tubercle を以て表面の各部分を掩つているものが多いが、これに反して実験群は一例を別として多くとも数個、大多数は 1、2 個結節又は全く肉眼的に結節を見出し得ない。肝、肺では差は更に著明であつて内臓には結節の極めて少いことがわかる。しかし接種局所と最初の所属淋巴腺である右腋窩には対照群との差は明でなかつた。

III 考 察

第 1 表より考察するにツベルクリンアレルギー反応に於ける抗原が加熱操作(100°C 1 時間)に依つて失われるものでないことが観ぜられる。即ち従来生食水浮游の加熱死菌によつては強いツベルクリンアレルギーが得られなかつたのは熱による抗原の変性ではなくて他の元因によるものであろう。流動バラフィンと共に接種すれば生菌による以上のツベルクリンアレルギーを強く永続的に惹起せしめ得るのである。又乱切接種によつてもツベルクリンアレルギーを確実に与え得る事も明である。次に実際に有毒菌を感染せしめての免疫実験に於ても我々は

第3表 流動パラフィン結核加熱死菌ワクチンの感染防禦力試験(3)

群別(前処置)	対照群(前処置なし)	実験群(I) 流パラ死菌接種群	実験群(II) BCG(ワクチン)接種群
モルモット番号	560 561 562 563 564 565 566	660 661 662 663 664 665 666 667	760 761 762 763 764 765 766
感染前ツベルクルリン反応	0 0 0 0 0 0 0	24 21 26 11 7 11 11 14 X X X X X X X X 21 16 22 11 8 10 11 14	27 24 18 22 18 12 X X X X X X 27 23 18 22 18 13
解剖前ツベルクルリン反応	21 20 23 24 14 10 20 X X X X X X X X 21 20 21 24 14 10 20	14 24 20 23 14 24 18 20 X X X X X X X X 16 20 20 23 14 24 19 20	25 20 20 24 22 18 13 X X X X X X 26 21 20 26 22 18 10
感染後解剖迄の体重増減	+ ± 0 80 100 100 120 0 110 0	+ + + + + + + ± 95 80 100 40 40 100 70 10	- + + ± + - 30 55 50 0 30 10 20
接種局所	G G - - A G G G	- G A - K G A G	A - - A G - -
淋			
腺			
膝	左 右 + ⊕ ⊕ - ⊕ ⊕ ⊕ ⊕	- ⊕ ⊕ ⊕ ⊕ ⊕ ⊕ ⊕ ⊕	- ⊕ ⊕ ⊕ ⊕ ⊕ ⊕ ⊕ ⊕
鼠	左 右 - + - - + - - +	- + - - - - - -	- + - - - - - -
腋窩(左右)	- - - - - - - -	- - - - - - - -	- - - - - - - -
後腹	左 右 - ⊕ ⊕ - - ⊕ ⊕ - -	- - ⊕ ⊕ - - - - - -	- - - - - - - -
肝	門 ⊕ ⊕ - ⊕ ⊕ ⊕ ⊕ ⊕ ⊕	- - + - - ⊕ ⊕ - - - -	⊕ + + - - - ⊕ - - -
気管	- ⊕ ⊕ - - ⊕ ⊕ - - - -	- - - - - ⊕ ⊕ - - - -	- - - - - - - -
後胸	骨 - - - - - - - -	- - - - - + - - - -	⊕ - - - - - - -
内臓			
肺	左 右 + + - - ⊕ ⊕ - - - -	- + - - - - - - - -	- - - - - - - -
肝	⊕ ⊕ - - + ⊕ ⊕ ⊕ ⊕	- - - - - + - - - -	- - - - - - - -
脾	⊕ ⊕ ⊕ + ⊕ ⊕ ⊕ ⊕ ⊕ ⊕	- + + - - ⊕ - - - +	+ ⊕ - - ⊕ + + -
腺	重 1.6 2.0 1.2 1.2 0.8 0.3 1.6	0.7 1.2 0.9 0.8 2.2 1.1 0.8 0.9	1.0 1.2 1.0 1.2 1.0 1.1 0.9
腎	左 右 - - - - - - - -	- - - - - - - -	- - - - - - - -

註 記号はすべて第2表に於けると同じ

明に此のワクチンの感染防禦力を知り得たのであるが、この際の免疫抗原とツベルクリンアレルギーに於ける抗原とが全く同一であるか否かはこゝで決定し得ないし、又アレルギーと免疫との関係は特に結核症に於ては諸家の意見が一致せず、今こゝに論議を繰返す暇はない。Römer (1, 2, 3, ) に依るモルモットに於ける動物実験から見ても、結核症に於ける免疫とアレルギーは密に關聯し合つており、例えば Koch の現象にしても、これを免疫とみるかアレルギー反応とみるかは非常に困難であつて、結局目的論的に考えれば、この現象によつて感染防禦された場合には免疫現象となるのであろう。我々の実験に於て、即ち皮下感染という条件のもとに於て、著明なる感染防禦が得られた事は、このワクチンのツベルクリン惹起能力と如何なる關係にあるかは将来更に分析的な研究を必要とするであらう。

#### IV 綜 括

①流動パラフィン中に浮遊せられたる結核加熱死菌は生食水浮遊のそれに比して、はるかに強いツベルクリンアレルギーをモルモットに与える。

②流パラ死菌ワクチン接種によつてモルモットは感染防禦力を得る。

③以上は乱切又は乱刺接種法によつても可能である。

#### 参 考 文 献

①Römer : Beitr. Klin. Tbk., 11, 79, 1908.

②Römer : Beitr. Klin. Tbk., 13, 1, 1909.

③Römer u. Joseph : Beit. Klin. Tbk., 17, 279, 1910.

流パラ死菌ワクチンに関しては第一報に於ける文献参考。

稿を終るに臨み、御指導と実験の便を計られた柳沢部長室橋主任に深謝す。

## 結核菌並びに BCG の均等培養に関する研究

### 第1報 好適培地の検討

広島医科大学細菌学教室(主任占部教授)

松 尾 吉 恭

(この研究は文部省科学研究費によつた。占部)

#### は し が き

Koch の結核菌発見以来、結核菌並びに BCG の培養に関する研究は多方面にわたり詳細に行われているが、これを液体培地内に均等に培養することはきわめて困難であり、したがつて平等浮游液を作るには一定時間磨砕せねばならず、しかもなお大小にかかわらず菌塊の存在は否定できない現状である。

先人 1), 2), 3), 4) により行われた結核菌並びに BCG の均等培養に関する研究を通覧すると主として、振盪操作を加えること、非抗酸性型をうること及び R 型から S 型へ変異させることに太別され、そのいずれか、またはいくつかを併用することによりこれに成功したという報告は多数に上つている。しかし完全な均等培養を毎常確実に行うことはきわめて困難な事実のように思われる。

私は振盪によりこれをえようと企て、まずその第1階梯としてこのさい用べき培地を種々検討中、最近に至つてこの方面に新たな知見を加える成績をあげることが

できたと考えるのでここに報告する次第である。

#### I 予 備 実 験

人型結核菌 Frankfurt 株(以下人 F 株)、牛型結核菌 B15 株及び BCG 株の各 1mg/cc 生塩水平等浮游液 1 滴 (1/4 注射針) を Kirchner 培地に移植して血温に保ち、1 日 2 回ずつとりだし毎分約 200 回、10 分間宛手振り法によつて振盪し、その後は再び血温に還して培養を行つた。

このようにすると振盪開始後 3~4 日頃から培液は濁濁し、静置すると濁濁は幾分減じて管底に雲架状物が堆積してくる。この雲架状物は培養日数がたつにつれて豊富となり、この中にも培液中にも多数の結核菌が証明されるが、その雲架状物の所見は一般に行われる静置培養にみられるような磊塊状の堆積ではなくて繊細な柔かい感じを与えるものである。これを軽く振盪すると培液中に拡散して肉眼的に均等な懸濁液となるのが認められ