

抗酸性雑菌とそのツベルクリン様物質に関する研究

(その1 抗酸性雑菌の動物接種について)

岩手医科大学(現結核予防会結核研究所)

工 藤 祐 是

(本論文の要旨は昭和 23 年第 23 回結核病学会総会において、その一部は第 2 回結核病学会東北地方学会において演説した。)

緒 言

非病原性抗酸性菌 (Acidfast Saprophytes—抗酸性雑菌—以下抗雑と略称、またツベルクリン及び、ツベルクリン様物質を以下総て「ツ」と記す) に関する研究は従来決して尠くはないが、その名の示す如く、若干の例外を除いて、生体に進心性または、特異的病変を示さぬ故、雑菌と見做される本菌族において、これから得られる「ツ」が旧「ツ」と如何なる関係にありや、また菌自体の接種乃至侵入により、生体が「ツ」アレルギーを獲得するや、ひいては結核菌の感染に対し、本菌の存在が何等かの影響を与えざるや等の諸問題については、現在なお、確たる結論が得られていないように思われる。

たとえば Meyer¹⁾ は冷血動物結核菌を接種された小児は、その菌の「ツ」によつて皮膚反応を示すが、旧「ツ」には反応しない。しかし、結核小児はいずれの「ツ」にも反応したといい、Nègre²⁾ もまた抗雑には結核菌ほどの感受性を発生する能力は少ししかないが、結核感染生体は、この抗雑やその「ツ」に反応し得ると称している。しかし Selter & Tanore³⁾ は抗雑「ツ」の結核患者に対する反応は、大腸菌接種の場合の反応よりも弱いことを指摘し、同様に Lange & Lange,⁴⁾ Scheff⁵⁾ も結核天竺鼠の実験で、抗雑「ツ」の反応は軽く非典型的であつたといひ、特に Lange は抗雑「ツ」の反応閾が旧「ツ」の 10 乃至 1000 倍も高いと報告した。しかし本邦の木根淵⁶⁾ は猿患者において、抗雑「ツ」反応を試み、旧「ツ」よりは稍々弱いが、両者略々平行する結果を得ている。

また抗雑接種による旧「ツ」反応については、前記の外、Crawford⁷⁾ も二、三の抗雑処置後の哺乳動物結核菌「ツ」及び鳥型菌「ツ」反応は非特異的であると称し、一方武田⁸⁾ は抗雑も頻回接種すれば「ツ」反応が陽転すると為し、中村⁹⁾ は結核菌と生物学的性状の似た抗雑では旧「ツ」反応が現れるがしからざるものでは現れないと述べている。

なお、抗雑死菌では「ツ」反応が全然陽転しないことは柳沢、岡その他の認めるところである。更に抗雑接種に由る結核菌の感染防禦に関しては、龜結核菌、バラ結核菌等の業績があるが、これ以外の多くは否定的である。

以上よりしても、なお、必ずしも一致した見解に到達しているとはいへぬが、自然界に広く分布し、人体各部より屢々検出せられ、かつ種々の場所より侵入し得る本菌族の生体に対する意義を、更に究明することは、他の抗酸菌研究の基礎として必要なことと考え、二、三の実験を行つた。

実 験

抗雑菌、BCG、油包結核死菌を天竺鼠及び家兎に接種し、これに抗雑「ツ」、BCG「ツ」、旧「ツ」を同時に注射し、その反応の推移を観察し、更に人型結核菌の感染を行つた。

材料—抗雑は喀痰より Schöngren¹⁰⁾ 法によらずに 4% 硫酸水処置後、岡、片倉培地に分離したもので、検出頻度の最も多かつた橙黄色系の一株 ES-8 を代表的に用いた。性状を述べると、集落は扁平半球状、面滑状乃至放射状皺襞あり、粘稠、鮮橙色、菌の形態は一般に結核菌より短小で両端屢々不鮮明、カタラーゼ中等度陽性 Kf45 秒、37°C 4~7 日で旺盛な発育を営み、培地色素を還元せず、インドール産生不明瞭、液体培地では、菌膜比較的薄く、漸次沈下するが液は幾分濁するのみである。

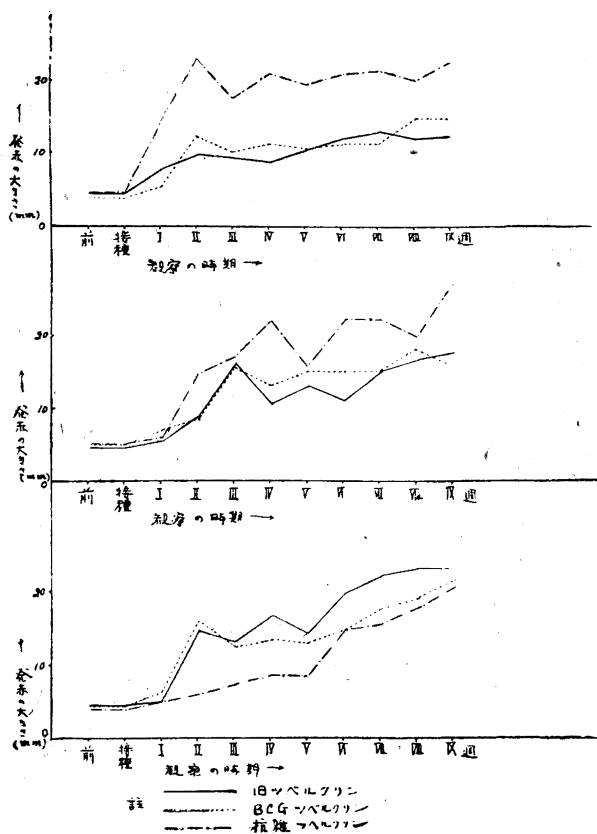
天竺鼠への生菌接種において、局処の軽度な変化を見る他は異常なく、明らかに非病原性と考えられる。

抗雑「ツ」はこの菌株をソートン培地に移し、37°C 12 日間培養 (青山 B 株⁸⁾ 過培養の菌量と比較してこの期間とした)、その培養濾液を旧「ツ」と同様に濃縮し、カルボールを加えて保存した。これには力価の判定基準がなく、量の点を厳密にして製した。なお BCG はソートン培地へ移し、3 週後に使用し、BCG「ツ」は旧「ツ」と

全く同様に8週間ソートン培地に培養し、富士¹¹⁾に準じて作製した。油脂包埋加熱結核死菌としては、陸F株のソートン培地3週培養菌体をそのまま乾燥、磨砕、流動パラフィンへ10 mg/ccの割に混じり120°C 30分加熱したものを用い、旧「ツ」は一貫して結核予防会研究所製標準「ツ」原液より稀釈して使用した。また感染用結核菌は陸F株3週間培養のものを用いた。なお本菌株は毒力が相当低下している。以上の菌液は総て手振り法の食塩水浮游液である。

実験動物は300 gr前後の白色健康天竺鼠(屠殺時500 gr前後)及び2500 grの健康家兎を用いた。操作—天竺鼠をABCの3群に分ち(各群4乃至5匹)、A群は抗雑10 mg/cc 0.1 cc (1.0 mg)皮内、B群はBCG10 mg/cc 0.1 cc (1.0 mg)皮内、C群は油包死菌10 mg/cc 0.1 cc (10 mg)皮下とそれぞれ左臀部へ接種、家兎は2群(各2匹)へそれぞれ抗雑及びBCGを同様に接種した。これらの動物は総て接種前それぞれ10倍稀釈旧

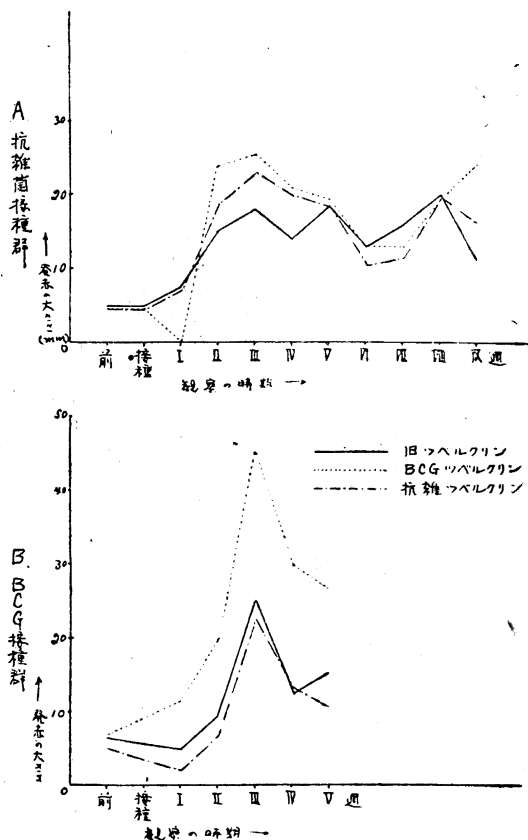
第1図 各種菌接種に対する各ツベルクリン反応の推移(天竺鼠)



「ツ」5倍稀釈BCG「ツ」10倍稀釈抗雑「ツ」により反応陰性なることを確め、接種後は各群別の箱に餌育し、隔日体温、体重を測定、1週間毎に側腹部へ半数宛左右交互に3種の「ツ」を同時に同一動物に注射し、その反応及び接種局処の変化を観察した。更に接種後9週目に対照として未処置健康天竺鼠D群を加え、このABCD4群に陸F株生菌浮游液 0.02 mg/cc 0.5 cc (0.01 mg)を右下腹部皮下へ接種した。そして更に観察9週に及び、これを屠殺、剖検し、各臓器を乳鉢で磨砕、4%硫酸水を加え、遠心、沈渣を2白金耳宛4本の岡、片倉培地へ培養し4週目の集落数を算定した。

成績—接種後の全動物は外観全く健康で、体温正常、体重漸増し、これらの接種による全身の影響は認め得なかつた。唯、接種局処の変化として、天竺鼠の抗雑群に接種翌日より丘疹を、10日目頃より中心に2~4mm程度の潰瘍を作り、少量の膿を排出、これを毎日培養するに、排膿のあつた12~14日まで、抗雑を証明し得た。そし

第2図 各種菌接種に対する各ツベルクリン反応の推移(家兎)



て20日位で治癒し小癬痕を残した。所属淋巴腺は殆ど触れない。BCG接種では、翌日小丘疹を形成するが殆ど自潰せず、2週以内に治癒し、淋巴腺は触れ得ない。

しかるに油包死菌では翌日より強い発赤と共に比較的大なる丘疹を作り、3日目頃より自潰し、排膿する。この膿からは培養陰性である。潰瘍は2週間で肉芽が新生、10mm以上の癬痕を残して治癒した。所属淋巴腺は凡そ小指頭大に触れる。家兎の抗雑、BCGの接種局処は天竺鼠よりも変化少なく、治癒も早い。

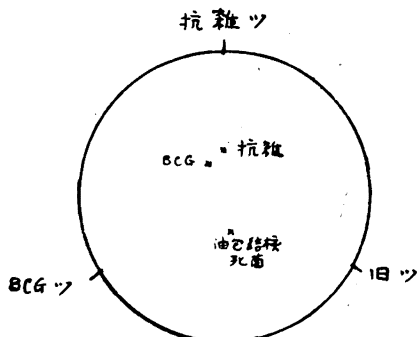
これらの各菌接種に由るA、B、C、3群の各種「ツ」の反応を、各群内動物の同一週における発赤の大きさの平均で逐週、その経過を曲線で示すと、第1図及び第2図の如くとなる。

これによると、抗雑生菌接種群においては、旧「ツ」反応は2週頃より10mm前後となり、略々同程度に持続しBCG「ツ」は旧「ツ」とほぼ同様に経過する。しかるに抗雑「ツ」のみは前二者に比し、はるかに強い発赤を示し、20~25mm前後の大きさを最後まで持続した。BCG接種群では旧「ツ」は3週頃より10mmを超え15~20mmに経過、BCG「ツ」も同様、抗雑「ツ」はこれらより更に強く反応し、20~25mmを持続した。次に油包死菌接種群の場合は、旧「ツ」は比較的早く、2週目頃より15mmに達し、その後幾分増強する。BCG「ツ」も略々同様の経過をとるが、抗雑「ツ」は少し遅れて4週頃より10mmを超え、9週目には三者共大差なく20~25mm前後となつた。

なお家兎の場合は抗雑接種で、何れの「ツ」もほぼ2週目頃より著明な反応を示し、20mmを超える。いずれも硬結を伴う明確な反応である。

BCG接種は事故により5週までの観察であるが、BCG「ツ」が最も強く最高40mmを超え、旧「ツ」抗雑「ツ」はほぼ同程度の25mm前後に反応した。

第3図 各菌接種に対する各ツベルクリン反応の関係を概括的に示す図



これらの関係を見るために、一つの試みとして第3図のように現して見た。

すなわち正三角形の頂点に各「ツ」を置き、その各々からの距離の比が、天竺鼠各群に於ける各「ツ」反応の1~9週の発赤径の総和に反比例するように抗雑、BCG、油包死菌の位置をとつたものである。たとえばこの図では、BCG接種動物は旧「ツ」よりも抗雑「ツ」の方により多く反応している。

以上の如く、9週まで観察したものに、未処置動物D群を加え、これらに前述のように人型菌の感染を行い、全身及び局処の変化を観察し、更に9週後に屠殺、剖検、培養した。

第二次接種後の変化は、A群では弱く、2週頃に膝壁腺を稍々触れたのみ、B群も同様、C群では1週頃に局処に軽度の膿瘍が見られ、膝壁腺が大豆大に触れた。D群は局処が2週頃に小膿瘍となり、2mm位の潰瘍を永く有し、膝壁腺が小指頭大に触れた。9週近く体重の稍々減少したものもあるが、大部分は著変を認めない。

肉眼的内臓所見としては対照D群の膝壁腺が著明に乾酪化し、更に後腹膜腺の腫張、脾、肝の少許の結節形成を見たものもあるが、臓器の腫張は著明ではなく、あまり強い感染ではなかつた。また接種群はA、B、C共膝壁腺の腫張が認められた他、一部後腹膜腺の腫張を見、他には変化がなかつた。

臓器中の結核菌培養の結果は第1表のようである。

考 察

本実験において、特に「ツ」反応を検討すると、天竺鼠の油包死菌及びBCG接種群の旧「ツ」反応は、従来の成績とおおよそ一致しているが、この2群は更にBCG「ツ」抗雑「ツ」にもほぼ同様に反応する。この際の抗雑「ツ」反応は、旧「ツ」BCG「ツ」に比して、むしろ強い結果を得た。またBCG接種でBCG「ツ」と旧「ツ」間には見るべき差がないようである。抗雑接種群においては、旧「ツ」とBCG「ツ」は弱い反応しか示さないが、抗雑「ツ」は甚だ強く反応している。すなわち抗雑「ツ」はいずれの接種動物にも強い反応を示すが、抗雑接種天竺鼠は抗雑「ツ」によつてのみ特に著明な反応を現した。

しかるに家兎に於ては、抗雑接種によつても旧「ツ」が明瞭な反応を示したことは注目に値する。また家兎では天竺鼠の場合と異なり、両接種群共、BCG「ツ」に強く反応した事実は、家兎が牛型菌に感受性の高いことと考えあわせると興味深い。また以上のように抗雑接種動物の旧「ツ」反応は、少なくとも生菌の場合、簡単に否定し去るのは早計であろう。もつともこの点について、異

第1表 各菌接種群における感染人型菌の蔓延状態

臓器	動物番号	抗酸性雑菌接種群					BCG接種群				油脂包埋結核死菌接種群				未処置対照群		
		1	2	3	4	5	6	8	9	10	12	13	14	15	17	18	19
右膝囊腺		卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
後腹膜腺		+	卅	-	-	卅	+	+	卅	+	-	+	-	卅	卅	卅	卅
腋窩腺		-	-	-	-	-	-	-	卅	-	-	-	-	-	-	-	-
左膝囊腺		-	-	-	-	●	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
脾		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
肝		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
肺		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
腎		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
副腎			-												-	-	-
睾丸副睾丸															-	-	-

註 岡、片倉培地各四本の平均集落数

+ 1~10 観察4週間目

卅 11~100

卅 101~以上

種菌や組織エキスを接種しても一過性の弱反応を示すことがある¹²⁾ともいわれるが、この場合は弱いとはいえず、一過性とはいえない。

また抗雑「ツ」の性質に関する前述の種々なる意見のうち、本実験の結果は Meyer, Nègre の考え方に近い。しかしこの「ツ」が軽く非典型的な反応しか示さぬという意見とは異なり、相当強く反応することを認めた。

次にこれら前処置動物への感染実験では、この場合のように毒力の低下した人型菌の微量感染では、いずれも対照に比べて幾分か感染菌の蔓延を阻止したように見えるが、対照の感染状態も不十分であり、これだけでは判断し得ない。

結 語

天竺鼠及び家兎を用い、抗雑及びその「ツ」の意義を究明せんとして、油包死結核菌、BCGと対照しつつ実験を行い、次の所見を得た。

すなわち、抗雑接種動物に対する旧「ツ」反応は、天竺鼠では弱い家兎では相当明らかに現れるものと思われる。しかし抗雑「ツ」は、抗雑接種動物は勿論、油包死菌及びBCG接種動物にも著明な反応を起す。なお抗雑接種動物の感染結核菌蔓延阻止力は、微量の弱毒菌の場合には幾分か肯定し得るのではないかと考えられる。

主 要 文 献

- 1) Meyer, S., Z. Hyg. Infekt Kr., 97, 433. 1923.
- 2) Nègre, L., Rev. Tuberc., Paris., 5, 161. 1923.
- 3) Selter, H. und Tancredi, Beitr. Klin. Tuberk., 60, 439. 1924.
- 4) Lange, B. und Lange, E., Deuts. med. Wschr., 48, 248. 1922.
- 5) Scheff, L. D., Amer. Rev. Tuberc., 12, 45. 1925.
- 6) 木根淵喜吉., レブラ., 8. 395, 昭18.
- 7) Crawford, A. B., Amer. Vet. Med., 69, 579. 1926.
- 8) 武田勝男., アレルギーと結核, 第三版, 408. 昭23.
- 9) 中村善紀., 第23回日本結核病学会総会演説, 昭23.
- 10) Schöngen., Zbl. f. Bakt. II Abt Bd 37. 1913.
- 11) 富士山他., 結核21, 164. 昭18.
- 12) 大島直美., 東北医学雑誌, 16, 157. 昭8.