

抗酸菌のいわゆる CORD FACTOR に関する研究

第一報 結核菌並びに自然界抗酸菌の CORD 形成相について

広島医科大学細菌学教室(主任 占部教授)

藤田 圭三

(昭和 27 年 2 月 7 日受付)

(本論文の要旨は昭和26年9月23日日本結核病学会第2回中国四国地方会において発表した。)

〔この研究は一部文部省科学研究費によつた。占部〕

は し が き

結核菌並びに自然界抗酸菌の発育形式乃至微小集落形態に関しては、占部¹⁾、戸田²⁾、阿武³⁾、長崎・市原⁴⁾、農野⁵⁾、水野⁶⁾⁷⁾、植田⁸⁾⁹⁾等がそれぞれ異つた角度からこれを研究、観察しているが、最近 Bloch¹⁰⁾、Middlebrook 及びその一派¹¹⁾は抗酸菌の中には菌体が密接な並行排列をもちつつ、特異な紐状の発育形態を示すもののあることを認めて、この形態を cord 形成と命名し、このような cord 形成は毒力結核菌並びに BCG に特異なものであつて、かかる cord 形成に参与する因子は菌体表面の新陳代謝物質であろうと推論し、これを Cord-factor と命名している。

前記占部、阿武、水野等もその観察中に Bloch 等の提唱する、いわゆる cord 形成に相当する発育形態を認めているが、cord の概念を以て結核菌並びに自然界抗酸菌の発育形式乃至は微小集落形態を究明したものは未だ見受けられないようである。

私は果して cord 形成が抗酸菌の毒力と関係があるものであるかどうか、さらに進んで Cord factor と毒力との関係等を究明することを研究の目的としているのであるが、その第1段階として、抗酸菌の発育形式乃至は微小集落形態をこのような cord の概念を以て観察することによつて、結核菌並びにその他の抗酸菌属が cord 形成の程度乃至その様相によつて、いくつかの型に分類できるのではないかと考えて、次のような実験を行つた結果聊か知見を得たので以下それについて報告する。

実験方法

表1にかかげたような菌株名をもつ人型結核菌8株、牛型結核菌5株 (BCG を含む)、鳥型結核菌5株 (変異 R 型2株を含む)、自然界抗酸菌10株を供試し、10%血清加 Kirchner 培地を用いての液内静置培養法並びに Slide-culture 法 (以下 S. C. 法)による微小集落の観察を行つた。

培地による静置培養において各供試菌株の 1mg/cc 生塩水均等浮遊液を作り、その1滴 (1/3 注射針による)

を培養液中に滴下し、管口蠟封後血温にて培養し、自然界抗酸菌においては培養2日乃至3日のもの、1週間前後のもの、2週間前後のもの3段階に分け、また各型結核菌については培養3日乃至4日のもの、10日前後のもの、3週乃至4週間前後のもの3段階に分け、それらの各時期に毛細ピペットで管底の菌塊乃至微小集落を鈎菌して、静かに載物ガラス上に採り、拡げないでその儘乾燥、固定後 Ziehl-Neelsen 染色 (以下 Z-N 染色) を施し鏡検した。

液面発育が見られる場合には同様に、管底、並びに液中の菌塊乃至微小集落のほか液面の微小集落をも採り、それぞれ比較観察した。

S. C. 法は当教室築山・平本¹²⁾の術式に従つて2乃至3日及び1週間前後培養した後 10% Formalin 液中で固定し乾燥させ Z-N 染色を施し鏡検した。

実験成績

供試した28株の結核菌並びに自然界抗酸菌の中には、特異な並行排列をとつて著明な定型的 cord 形成を示すものと、全くそうでないものと、及びそれらの中間に位

第1表 結核菌並びに自然界抗酸菌の Cord 形成相による型別

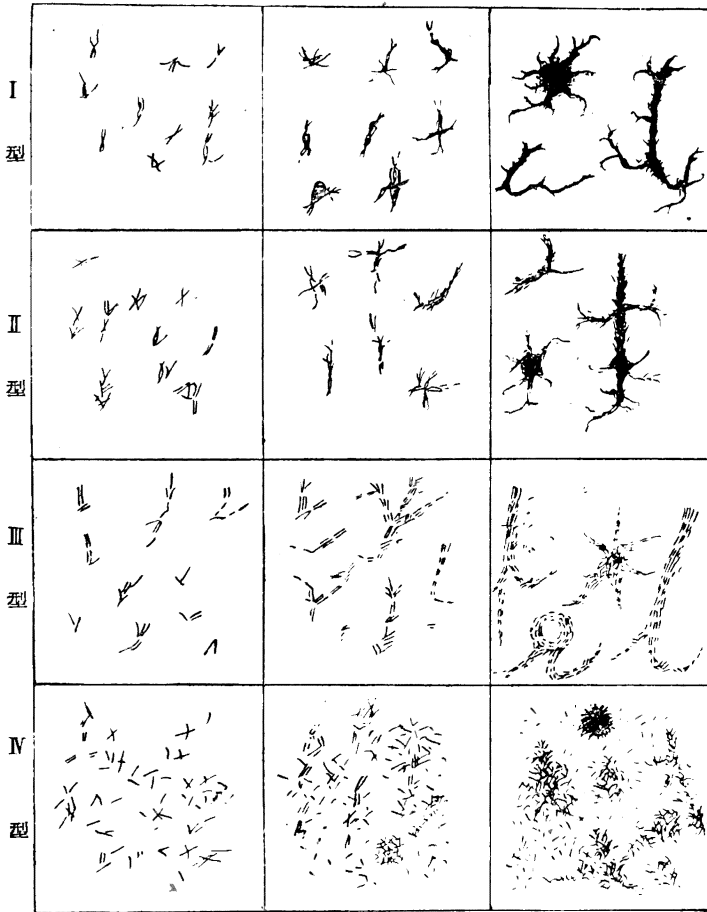
I	人型菌	人 F. 永田・進藤・H。 青山 B. 保利・河上・安マ
	牛型菌	B15. RM 京. BCG
II	牛型菌	牛10. 三輪
	鳥型菌	A62(変異 R 型). 京(変異 R 型)
	自然界抗酸菌	蛙慈恵. H85 A
III	自然界	チモテー 伝研. 木戸黄
	抗酸菌	下津. 竹内 K. 920 A
IV	鳥型菌	京 A71. フラミンゴ. 獣調
	自然界抗酸菌	土30. 石川. 松本

第1図 結核菌並びに自然界抗酸菌の Cord 形成の様相

培養 2~3日

培養 7~10日

培養 2~3週



する種々の程度の非定型的 cord 形成を示すものの別があることが認められた。そしてその所見によつて表1に示すような4つの型に供試菌を大別することができた。それらの実相は図1に示した。

第I型：個々の菌体が緊密な並行排列を示しつつ集つて紐状となり、しかもそれらがいわゆる「繩をなつた」ような状況を示し定型的な cord を形成する。そして日とともにこの菌塊乃至微小集落は成長し、側枝分行し、先端に行く程細長くなりかつ彎曲を保ちながらやがて美麗な“唐草模様”状を呈するようになるもの。

第II型：I型の cord に比して、菌体の並行排列は保たれてはいるものの cord の巾がやや広くなり、菌体の緊密度もやや粗であつて、しかも菌体はI型に比し幾分相交錯する傾向を示し、培養日数を経て成長した菌塊における“唐草模様”状もやや粗雑に見えるもの。

第III型：菌体は美事な並行排列を示してはいるが、その緊密度は極めて弱くなり cord は前二者に比して幾分細長くなり、成長した菌塊における“唐草模様”状の様相も、もはや定型的でなくなりむしろ帯状の長い cord を形成するようになるもの。

第IV型：Cord を全く形成せずいわゆる Irregular clumps (不規則菌塊)の状態を示すもの。

大体以上のように全供試菌を4型に大別することができたが、勿論各型間の移行型ともみなければならぬような様相が培養条件とか日数とかによつて発現することがあり時に判然と型別し難い場合のおこることもないではなかつた。例えばII型に属する牛10株・牛三輪株・鳥A62株・鳥京株等は時に第I型を思わせる状況を示すことがあり、又III型に属するチモテー伝研株・木戸黄株・下津株等も時にII型を思わせる様相を呈していることがあるのが認められた。又反対にI、II型に属するものがIII型の様相を示したり、又稀にはIV型の様相を示すことさえあるにはあつたが、このような場合には多数の集落を検討観察することによつて、その主流をなす傾向のものを選び各型にあてはめるようにした。とはいうものの一般的にみて、前述のように各型の特徴を十分に追究観察すれば、この型別はまず困難ではないと考えられた。

以上の所見をさらに仔細に検討した結果大体次のような知見が得られた。

1) Cord 形成と集落性状との関係

表2に示したように供試菌28株中R型を示すもの20株、S型7株、中間(RS)型1株であつたが、そのうちI型はすべてR型で11株、II型もすべてR型で6株、III型では5株のうちR型3株、S型1株、中間型1株であつた。IV型は6株ともS型であつた。すなわち cord 形成性を示す抗酸菌はその殆んどがR型であることが判つた。

2) Cord 形成性と非抗酸性型菌の出現頻度との関係

本実験中に牛三輪株、鳥京株、及び表1に示した自然界抗酸菌10株すべてに、非抗酸性型菌の出現するのを認めることができた。これらは cord 先端のみならず cord の起始部あるいは又 cord 自体の中にも認めることができたし、時には cord 全体がこれ等によつて占められている場合もあつた。これ等の出現頻度を各型別についてみると、第I型11株にはすべてにその出現を認めなかつたが、第II型6株中に4株(牛三輪株・鳥京株・H85A株・蛙慈恵株)第III型5株すべてに、又第IV型6株中に4株(土30株・松本株・石川株・フラミンゴ株)に非抗酸性型菌の出現を認めることができた。すなわち非抗酸性型菌の出現は比較的 cord 形成の程度の弱い

ものにその頻度が多いように思われた。さらに同一菌株について静置培養を行ったものと S. C. 法を行ったものについて、非抗酸性型菌の出現頻度を比較してみると、静置培養 > S. C. 法のもの 4 株(鳥京株・920A 株・竹内 K 株・木戸黄株) 静置培養 = S. C. 法のもの 2 株(牛三輪株・H85A 株) 静置培養 < S. C. 法のもの 7 株(フラミンゴ株・土 30 株・松本株・蛙慈恵株・チモテー伝研株・石川株・下津株) であった。

なお同一菌株について、非抗酸性型菌の出現の極めて多い場合には、その cord 形成の状況は、抗酸性菌のみで(あるいは極く僅かの非抗酸性型菌を含む) cord を形成しているものよりも幾分やわらかい靨を呈したが菌体排列の緻密度には大した変化はないようであった。

3) Cord 形成性と培養条件との関係

第 2 表供試菌の型別・菌型・菌株名・菌長・顆粒数・抗煮沸性・抗酸性・集落性状一覽表

型別	菌 型	菌 株	菌 長	顆 粒 数	抗 煮 沸 性	抗 酸 性	集 落 性 状
I	人 型	人 F	1.45 ^μ	2.72	2' 30''	130'	R
		H ₂	1.28	2.30	3'	80'	R
		進 藤	1.90	2.80	2' 30''	90'	R
		永 田	1.29	2.86	1' 50''	100'	R
		青 山 B	1.46	2.80	2'	80'	R
		保 利	1.28	2.80	4' 30''	90'	R
		河 上	1.44	2.34	2' 30''	75'	R
		安 マ	1.39	3.16	2'	80'	R
	牛 型	B 15	1.49	3.12	1' 30''	45'	R
		R. M 京	1.03	2.80	3'	90'	R
B C G		1.22	2.88	3'	80'	R	
II	牛 型	牛 10	1.42	2.60	3'	90'	R
		三 輪	1.57	2.52	5'	90'	R
	鳥 型	A 62	1.43	2.58	1' 40''	90'	変異 R
		京	0.96	2.78	1' 50''	90'	変異 R
自然 抗 酸 菌	蛙 慈 恵	2.95	2.98	10''	20'	R	
	H 85A	1.65	2.06	25''	20'	R	
III	自 然 界 菌	チモテー伝研	1.39	3.10	20''	25'	R
		木 戸 黄	1.25	2.38	20''	95'	R
		下 津	3.83	2.60	30''	20'	S
		竹 内 K	1.54	2.72	20''	20'	R
		920 A	1.51	2.65	40''	40'	R. S
IV	鳥 型	京 A71	1.86	3.02	60''	100'	S
		フラミンゴ	1.41	3.48	1' 30''	100'	S
		獣 調	1.40	3.64	1' 30''	60'	S
	自 然 界 菌	土 30	1.28	2.67	50''	90'	S
		松 本	0.91	2.67	5''	120'	S
		石 川	1.93	2.52	45''	35'	S

註：抗煮沸性及び抗酸性の欄における数字は菌体の完全脱色に要した時間を示す

前述の静置培養の場合と S. C. 法の場合との間には大体殆んど cord 形成性に差異は認められなかつたが、時として S. C. 法の方において菌体の排列がやや粗となり、しかも cord が延長するようなことのあることを認め得た。例えば蛙慈恵株・チモテー伝研株・下津株等がそうであつた。

4) Cord 形成性と培養時間との関係

培養ごく早期には特異な“唐草模様”の状況は認められないが、培養 3 乃至 4 日目になると cord 形成の有無乃至程度が大体において判別できるようになると思われた。すなわち cord 形成を示すものにおいては、この時期に星芒状・紡錘状・放射状等の形を示しているものが多く、しかも菌体も単なる並行排列を示すものよりも、あたかも鉛棒をネジたように互に絡み合っているものの方が cord

形成の程度がより著明

になるもののような感を

受け得た。“唐草模様”状

の発現は菌株によつて異

るが結核菌では大体培養

10 日前後であつて、自然

界抗酸菌のように発育の

速いものでは培養 3 乃至

4 日ですでにこれを認め

ることができた。なお

I, II, III 型においては 2

週間以上 1 カ月前後の培

養菌においても、大体そ

れぞれの程度に cord の

状況を保持しているのが

認められるが、このよう

に成長した時期では co-

rd の巾も広くなり、かつ

又 cord が互に接近したり

たりするようになるため

に、時として各型間の判

別が困難になる場合もあ

つた。一般にいつて培養

2 週間以内の集落乃至菌

塊について観察すれば、

それぞれの特徴がよくう

かがわれ、そのために型

別の判定も容易であるよ

うに思われた。

5) 発育部位と Cord

形成との関係

液体培地において発育

部位を異にする同一菌株

の菌塊乃至微小集落、すなわち液面・液中・管底のそれらの cord 形成については相互間に特別な差異は認められなかつた。

6) Cord 形成と菌の色素産生能との関係

供試した自然界抗酸菌 10 株中には 5 株の色素産生菌(チモテー伝研株・石川株・土 30 株・竹内 K 株・木戸黄株)を含んでいたが、その中 3 株(チモテー伝研株・木戸黄株・竹内 K 株)は III 型に属し、残余の 2 株(土 30 株・石川株)は IV 型であつた。従つて本実験の範囲内においては抗酸菌の色素産生能と cord 形成性との間には一定の関係があるようには思われなかつた。

7) Cord 形成と各菌株の菌長・顆粒数・抗煮沸性・抗酸性との関係

菌長並びに顆粒 (Fontes) 数は菌体 100 個についての平均値を求め、抗煮沸性・抗酸性(はとも占部¹³⁾)の方法に従つて検した。なお抗酸性については 10% 硫酸水を使用して検討した。その結果は表 2 に示す通りであるが、抗煮沸性を除き cord 形成との間には特別な関係は認められなかつた。抗煮沸性の場合にのみ oord 形成度の強い I, II, 型の方が III, IV, 型に比して幾分強いようであつた。

総括と考按

1) 結核菌並びに自然界抗酸菌の発育形式に関しては、前述のように先人¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁸⁾等によつて異つた角度から検討されているが、長崎・市原⁴⁾農野⁵⁾等は主としてその集落形態を肉眼的観察によつて検討し、それぞれ幾つかの型に分類している。しかしその微小集落形態乃至は発育形式を顕微鏡的に仔細に追究したものは占部¹⁾、阿武³⁾、水野⁶⁾等にすぎない。

占部¹⁾は主として菌体の分裂形式及び発育環について詳細な研究を展開し、又阿武³⁾は各型結核菌及び自然界抗酸菌を供試し S.C.C. 法を用いてそれらの微小集落形態に関して詳細な観察を行い、特に紐型の発育形態をとるものを哺乳動物結核菌に認め、他の発育形態を栗の球型という形容のもとにこれをさらに 3 型に分類し、鳥型結核菌をこの第 2 型に含めている。すなわち球の突起が大きく長くしかもその長さが不揃であるものを第 1 型に、突起がやや短いものを第 2 型に、突起が痕跡的なものを第 3 型に分類している。

これは私の場合と分類の根拠が異なるので、結果として現われた成績においても多少の差のあることは否めないことであるが、大体においてその所見の合致しているのが認められる。

ただし、ここに阿武は同 1 菌株よりでた R 型と S 型とでは R 型の方が突起が長い傾向があるが「本質的な差ではない」と述べているが、私の実験では前述のように R 型の方に主として cord 形成を認めているし、又別途経験した鳥型結核菌調株 R 型と同 S 型との間にも顕著な

差異があり、R 型は明瞭に oord を示している。又鳥型結核菌 A62 株、及び京株は私の場合原株 S 型より変異した R 型を用いたのであるが、S 型である他の京 A71 株・フラミンゴ株・獣調株等とともに oord を示さないのに反してこれ等は明らかに oord を示しているところからして、阿武の「微小集落形態は R. S. の差により殆んど影響をうけない」と述べていることは、cord 形成の観点よりすれば全面的に肯定することはできないように思われる。

従つてさらに想像をすすめれば、結核菌並びに自然界抗酸菌の R \leftrightarrow S 変異においては何らかの形で oord factor が関与しているのではないかとも思われるが、この点に関してはさらに検討の要がある。

2) 水野⁶⁾は主として人型結核菌の発育形式を時間的に詳細に追究し、その増殖・発育基本形式を確定し、その観察中にやはりいわゆる cord 形成に相当する微小集落形態を認めており、その時間的に追究した所見も私の場合と大体一致しているのがみとめられる。氏はさらにこの発育形態を屈光性の強弱と集落形態を基として、9 形態に分類しているが、それぞれの形態は幾分宛その様相こそ異つているが cord 形成の観点からみると、その本質はすべて一貫したものではないかと思われる。

3) 植田⁹⁾は結核菌の発育様式において、結核菌の連鎖の先端に位する部に非抗酸性の形態を認めて、これに病原的意義を与えんとしているが、私の場合先述のように cord の先端のみならず cord 内各所にも非抗酸性型菌の出現しているのを認め、かつ又 cord 形成の程度の強い、しかも人型・牛型結核菌のように比較的毒力の強いものの属している I 型よりも、比較的 cord 形成の弱いしかも毒力の比較的少ないものの属している II, III, IV 型にその出現率が多かつたところからして、必ずしも非抗酸性型のものみに病原性があるものとは考えられないように思われた。

4) 先人の多くが結核菌並びに自然界抗酸菌の集落形態のみを以て、これ等の鑑別に供せんとして失敗に終わっているが、私の場合においても cord 形成相のみを以てこれ等の鑑別に供することは不可能と思われた。

むすび

1) 結核菌並びに自然界抗酸菌の微小集落乃至は菌塊を cord 形成の角度より観察し、その cord 形成の有無乃至程度によつて、これを 4 つの型に大別することができた。

2) Cord 形成の出現は主として、その集落形態が R 型であるか S 型であるかによつて左右され、R 型に主として出現し、しかもその程度は人型並びに牛型結核菌のごとく毒力菌の方が比較的より定型的であつた。

3) Cord 形成の様相には培養条件、培養液内の所在部位、培養期間等の相異によつても特別な変化は認められ

なかつた。

4) 非抗酸性型菌の出現は cord 形成の程度の強い I 型よりも、比較的 cord 形成の程度の弱い II, III, IV 型に多く認められた。

5) Cord 形成性と菌長・顆粒数・抗酸性及び菌の色素産生能との間にも特別の関係は認められなかつたが、抗煮沸性のみは I, II 型の方が III, IV 型に比して一般により強度であつた。

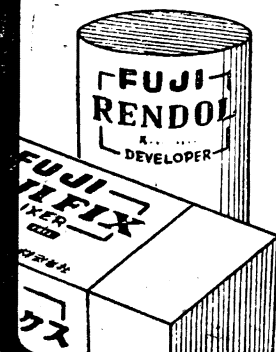
(稿を終るに当り終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師占部教授に深謝致します。)

主要参考文献

- 1) 占部：福岡医科大学雑誌，29(12)，2983—3007，昭11.
- 2) 戸田：結核菌と BCG，南山堂，昭24.
- 3) 阿武：結核，24(4)，105—110，昭24.
- 4) 長崎・市原：レブラ，5(4)，531—541，昭9.
- 5) 農野：結核，17(8)，746—753，昭14.
- 6) 水野：日本細菌学雑誌，5(1)，13—18，昭25.
- 7) 水野：東京医事新誌，66(3)，106—112，昭24.
- 8) 植田：日本臨床，8(3)，245—253，昭25.
- 9) 植田：東京医事新誌，66(4)，155—161，昭24.
- 10) H.Bloch：J. Exp. Med.，91(2)，197—217，1950
- 11) Middlebrook, G., Dubos, R.J. & Pierce, C., : J. Exp. Med. 86, 175-183, 1947.
- 12) 築山・平本：日本臨床結核，近刊予定
- 13) 占部：福岡医科大学雑誌，29(12)，2902—2942，昭11.

富士X-レイフィルム

高いコントラスト優れた鮮鋭度強靱な膜質
完全な包装四大重要ポイントを完全に捉えた
富士X-レイフィルムと指定処方に組合
された処理薬品により診断は確実容易且つ
スピーディになります。



“レンドール”(富士X-レイフィルム用現像剤)

使用液：2,000 c.c

“フジフィックス”(富士酸性硬膜定着剤)

使用液：4,000 c.c



富士フィルム