

抗酸菌のいわゆる CORD FACTOR に関する研究

第2報 抗酸菌の微小集落形態と Cord 形成相との相関性について

広島医科大学細菌学教室 (主任 占部 薫教授)

藤 田 圭 三

(昭和 27 年 9 月 13 日受付)

(この研究の1部は文部省科学研究費によつた。占部)

は し が き

私は第1報¹⁾において、Bloch²⁾, Middlebrook³⁾の提唱する Cord 形成の有無乃至その程度によつて、各型結核菌並びに非病原性抗酸菌、計 28 株を 4 型に分類し得たこと及び Cord 形成は必ずしも毒力結核菌にのみ特異なものでなく、主としてその集落性状が R 型であるか、S 型であるかということに関連するものようであつて、これは R 型においてより著明に認められるものであることについて報告した。

その後さらにこれら同一菌株について、その Kirchner 寒天深部培養法並びに Slide Culture 法による各微小集落の形態学的観察を行つた結果、次のような所見が得られたので以下報告する。

実 験 方 法

1) 供 試 菌 株

人型結核菌 (8 株): 人 F 株・青山 B 株・河上株・保利株・進藤株・永田株・安マ株・人 H₂ 株

牛型結核菌 (5 株): BCG・B 15 株・RM 京株・牛 10 株・三輪株

鳥型結核菌 (5 株): A 62 株・京 A71 株・京株・フラミンゴ株・獣調株

非病原性抗酸菌 (10 株): 蛙慈恵株・H85 A 株・チモテー伝研株・木戸黄株・下津株・竹内 K 株・920 A 株・土 30 株・松本株・石川株

2) Kirchner 寒天深部培養

融解後 50°C の重炭酸に保たれた Kirchner 寒天の 5 ~ 8cc ずつを滅菌シャーレにそそぎ、培地の凝固しないうちに、予め法の如くにして調製した各供試菌株の 1mg/cc 生塩水浮游液を 1/3 注射針で 1 滴宛滴下し、時を移さず静かにシャーレを廻転しつつ培地と菌液との混和を図り、その後静置して充分培地の凝固するのを待つて、シャーレを蠟封し裏返して 37°C の孵卵器内で 2~3 週間培養した。非病原性抗酸菌は 2 週間前後ですでにその集落が培地中に充分認められるようになり、各型結核菌ではややおくれて 3 週間前後でその集落が充分認められるようになる。このような状態になつたものを孵卵器内からとりだして、シャーレの蠟封を解き、46 倍の双眼顕

微鏡でそれらの集落の様相を観察した。

3) Slide Culture (S.C.) 法

S.C. 法は教室の築山・平本⁴⁾の方法に従つて実施し、スライド硝子の表面に肉眼的にその集落の発生が充分認められるようになる迄、すなわち結核菌では 10 日間前後、非病原性抗酸菌では 5~6 日間培養した。培養後はスライド硝子を試験管より取りだして直ちに 10% フォルマリン水中に移し充分固定後乾燥させ、まず染色を施すことなくその儘で 46 倍双眼顕微鏡で観察し、その後これらに Ziehl-Neelsen 染色を施してさらに 500 倍油浸装置でこれらの集落の様相を鏡検観察した。因に本法による場合には操作を充分慎重に行わないと培養期間中においても、又培養終了後スライド硝子を試験管内よりとりだす際においても、発育した微小集落がスライド硝子の表面から脱落することが往々にしてあり、このことはことに結核菌の場合において顕著であつた。なおこれをさけるためには当教室尾田⁵⁾の考察になる S.C. 法を推奨したい。

実 験 成 績

以上のようにして観察した集落形態を第1報に掲載した Cord 形成相による 4 型別に従つて分類し検討してみると、これ等の集落相とさきの Cord 形成相との間にはほぼ一定した関連性のあることが認められたこと第1図に掲げた通りである。

いま第1図にかかげたところについて少しく説明を加えれば大体以下のようである。

1) Kirchner 寒天深部培養集落相

Cord 形成相による型別の第 I 型に属する抗酸菌の深部集落相: 質の緻密な集落周辺に短大な或いは痕跡的な突起をもつ金平糖様緻密集落であつて、その表面は光沢性であり、細かいチリメン皺様の皺壁によつて被われる。大きさはほぼ 30μ~50μ×30μ~50μ。

Cord 形成相第 II 型菌の深部集落相: 大体 I 型と同様の不整球状を示すが、突起は前者に比してより明瞭であつて、突起の長さが 20~40μ に達するものもあり、時に棘状又は栗イガ状を示すものもある。集落の緻密度は I 型に比してやや弱く、表面も幾分平滑であり、大きさは

第1図 Kirchner 寒天深部集落並びに S.C. 法による微小集落の様相別と Cord 形成相別

Cord 形成相の種類	型 所 属 菌 株	Cord 形成相 Z-N 染色 ×1000	Kirchner 寒天 深部集落相 ×46	S.C. 法による微小集落相	
				非染色 ×46	Z-N 染色 ×500
I 型	人型 入F・永田・進藤 H ₂ ・青山B・保利 河上・安マ				
	牛型 B15-BCG RM京				
II 型	牛型 牛10・三輪 鳥型 京・A62 非病 蛙・徳恵 H85A				
	チモテ・伝研 非病 木戸・黄・下津 竹内 K 920A				
III 型	鳥型 京 A 71・獣飼 フラミンゴ 非病 土 30・石川・松本				

註：Cord 形成相は2週間前後のもの，Kirchner 寒天深部集落相は3週間のもの，S.C. 法による微小集落相は6～10日のものを示す

大体 $30\mu \sim 50\mu \times 30\mu \sim 50\mu$ である。

Cord 形成相第Ⅲ型菌の深部集落相：不整球状の菌塊から比較の明瞭な突起が出ているがその突起は上記第Ⅱ型菌のそれに比してやや粗であり，時には長さ $100 \sim 200\mu$ のような長大な樹枝状を示すものも認められる。なお，集落の緻密度は大体Ⅱ型のそれとほぼ同程度であり，大きさもほぼ同様であつて，大体 $30\mu \sim 50\mu \times 30\mu \sim 50\mu$ を示した。

Cord 形成相第Ⅳ型菌の深部集落相：これに属するものは一般に前記第Ⅰ型菌の深部集落にその形態，性状共に酷似しておつて，特にいふべき特異点は認められないが，ただ集落の緻密度において第Ⅰ型所屬菌のそれにやや劣るように思われる。なお，集落の大きさは大体 $30\mu \sim 50\mu \times 30\mu \sim 50\mu$ であつて他とはほぼ同様であつた。

2) S.C. 法における微小集落相

S. C. 法においては前述のように染色を施さないでその儘46倍双眼顕微鏡で観察した場合と，Ziehl-Neelsen 染色を施して，500倍油浸装置で観察した場合とがあるので前者を(イ)項に，後者を(ロ)項に別個に記載することにした。

Cord 形成相による型別の第Ⅰ型に属する抗酸菌の微小集落相：(イ)第Ⅰ型菌の前出 Kirchner 寒天深部培養集落に酷似し金平糖様不整円形の丘状を呈し，質も緻密であり真珠様の光沢を呈し，大きさは大体 $10\mu \sim 20\mu \times 10\mu \sim 20\mu$ 位であつた。(ロ)緻密な不整円形の集落周辺から放射状に，強靱な感じのする縄状の而も先端に行くに従つて，鋭尖な大小種々の突起を出しているのが認められ

た。非抗酸性型菌の出現は極めて稀であつた。

Cord 形成相第Ⅱ型菌の微小集落相：(イ)光沢のある扁平雲母状にして，不規則なアメーバ状を呈し，その大きさはやや大きくてはほぼ $200\mu \sim 300\mu \times 150\mu \sim 200\mu$ を示した。(ロ)緻密度は前者に比して粗であり，集落周辺はやや丸味を帯び，やわらかい感じを受ける。粗雑な突起を認めることもあるが一般に顕著ではない。非抗酸性型菌の出現は比較的多いようであつた。

Cord 形成相第Ⅲ型菌の微小集落相：(イ)第Ⅱ型菌の微小集落に比して緻密度はやや弱く，曲玉状・八つ手状の形を示すものがあり，光沢もや

や鈍くて大体前記第Ⅰ，Ⅱ型菌の中間に位するような光沢度を示した。集落の大きさはほぼ $50\mu \sim 100\mu \times 100\mu \sim 200\mu$ であつた。(ロ)一般に細長い集落形態を示しているが，その一端又は屈曲部に丸味を帯びた部分が認められ，集落の辺縁も滑らかで，小数の分枝状の太い粗雑な突起が認められた。非抗酸性型菌の出現の程度は前記第Ⅱ型菌とほぼ同程度であつた。

Cord 形成相第Ⅳ型菌の微小集落相：(イ)前記の第Ⅱ，Ⅲ型菌の中間に位するような様相を示し，光沢・緻密度・形状において或いは第Ⅱ型菌のような様相を示したり，或いは第Ⅲ型菌のような状況を示したりで，翻然たる一定の特徴を示さない。集落の大きさはほぼ $50\mu \sim 100\mu \times 100\mu \sim 180\mu$ であつた。(ロ)この場合においては，非抗酸性型菌の出現が顕著である点以外には翻然たる一定の特徴は認められないで，第Ⅱ，Ⅲ型菌の中間に位するような様相を示している。

総括並びに考按

大体以上のような所見が認められたのであるが，S.C. 法の場合さらにその集落形態を通覧してみると，第Ⅱ，Ⅲ，Ⅳ型は互に似通つた様相を示し，第Ⅰ型とは明瞭な対比をなしていて，むしろ第Ⅰ型と第Ⅱ，Ⅲ，Ⅳ型の2群に大別できるような状況にあることが判つたが，この点は Kirchner 寒天深部集落相における所見とは相違するところというべきであらう。

なお以上の各型の特徴は勿論劃一的なものではなく，それぞれの型に属する各菌株の集落形態を検討した上で比較的共通の総括的特徴であつて，各菌株個々の場

合を仔細に検討するときには例外的所見の混在し得ることは勿論である。この場合興味あることは、第1報の Cord 形成相において各型間の移行型ともいえる菌株では今回のこれらの集落相においてもまた移行型ともいふべき様相を示すものがあつたということである。

他面、前記両培養法における集落相を各型毎に比較してみると、若干ながらその集落の質・形状等において互に関連性のあるのが認められた。すなわち、

第Ⅰ型菌に属する菌株の集落相：質の緻密な金平糖状の形態を示し、突起は短大か痕跡的であり、光沢がある。

第Ⅱ型菌に属する菌株の集落相：緻密度は第Ⅰ型菌のそれよりもやや粗で比較的明瞭な突起を有し、光沢はあり表面は比較的平滑である。

第Ⅲ型菌に属する菌株の集落相：集落の質は第Ⅱ型菌のそれに似るが、突起はさらに粗大である。

第Ⅳ型菌に属する菌種の集落相：各型の特徴を混じったような状態を示す。

両培養法における集落相の上記のような共通点とさらに Cord 形成相における各型の所見とを互に比較してみると、又ここに両者間に一脈の或関連性のあることが認められた。すなわち Cord 形成相においても、集落相においても、第Ⅰ型から第Ⅳ型に至るに従つて、次方に緻密度が減弱し、Cord と集落ともに順次粗大になっていくように思われた。

このことはことに S.C. 法による微小集落の染色鏡検所見において著明であつて、とくにそのさいの突起の出かた・分枝状況・緻密度などは Cord 形成と深い関係があるようであつて、突起のでかたが放射状で、突起の巾が狭く鋭尖で、比較的その数が多く、しかも軽い彎曲を保つており、又その緻密度が強ければ強いほど Cord 形成がより定型的になつていくことが窺われた。

さて、結核菌並びに抗酸菌の集落形態に関しては、すでに第1報にも述べたように、阿武⁶⁾、市原・長崎⁷⁾、農野⁸⁾、戸田⁹⁾等によつて研究され、それぞれ独自の立場からこれ等を幾つかの型に分類しているが、今回私の観察した集落形態も勿論それらの分類の中のいずれかの型に編入されるであろうことは容易に考えられるところであるが、ただ私の今回の場合はこれらの集落相が第1報において型別した Cord 形成相に合致するかどうか、もし合致するとすれば如何なる状況で合致するのかなどについても検討するための観察であつたので、その結果として究局において両者間に或程度の関連性のあることをたしかめ得た以上には、上記の先人の分類した型との異同乃至関連性については、敢て追究の歩をすすめることはしなかつた。

なお、私の今回の集落相の型別は、あくまでさきの Cord 形成相を基準として行なわれた結果として集落相の各型に所属することとなつた諸菌株において現われた

比較的共通な集落の特徴を表現したものであるもので、これらの集落相から逆に帰納的に当該菌株の Cord 形成相の如何を明確に予測したり、推論したりすることは必ずしも可能ではない。但し S.C. 法による微小集落の Ziehl-Neelsen 染色標本によつた場合には、このことはかなり容易であることは第1報において述べた通りである。

Suter 及び Dubos¹⁰⁾ は Tween 80 及び Albumin 含有液体培地に2年以上継代培養された閱歴の異なる3株の BCG について、その寒天平板上の集落形態に拡大型・中間型・非拡大型の3型を認めて、BCG の種類によつてこれらの型の出現率に特徴のあることを述べ、併せて拡大型集落では Cord 形成は強く、非拡大型では Cord 形成は弱いということを述べているが、私の今回の実験においても Kirchner 寒天深部培養のさいにたまたま表在性に発育したものが、深部のそれに比して比較的中間型又は拡大型の様相を示すことがみとめられた。しかしこれらのものは深部のものに比して集落の緻密度はやや粗であり、且つ又突起も幾分延長しているような傾向を示したところからすれば、或いはその Cord 形成性はむしろ弱いのではないかと一応思われはしたが、この点確言は憚られる。

ともあれこのように集落相から Cord 形成相を直ちに推論することにはかなりの危険性が内蔵されており、その大体の傾向は把握することは出来ても明確に推論することはむしろ困難であるといつてよからう。そこで Cord 形成の様相を検するには液体培地による培養2週間以内の微小集落よりの染色標本の仔細な鏡検に俟つのが最も安全であるといつて大過ないであろう。

む す び

1) 結核菌並びに非病原性抗酸菌計 28 株をそれらの Kirchner 寒天深部培養法並びに S.C. 法による微小集落の形態学的所見の比較的共通な特徴点をよりどころとして、第1報の Cord 形成相による4型別の中にそれぞれあてはめることができた。

2) Kirchner 寒天深部培養による集落相 S.C. 法による当該菌型の集落相との間には互にかなり共通した特徴点が証明された。

3) 一般について集落形態上、質は緻密で突起は短大か又は痕跡的であるような菌株では Cord 形成がより強度且つ定型的であつた。但しこのように集落相から帰納的にその菌株の Cord 形成相を推論することは、必ずしも毎常可能とはいえない。

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します。

主要参考文献

- 1) 藤田：結核，27 (8)，409～413，昭 27。

- 2) Bloch: J. Exp. Med., 91 (2) 197—217, 1950. 6) 阿武: 結核, 24 (4), 105~110, 昭 24.
 3) Middlebrook, Dubos & Pierce: J. Exp. Med., 7) 長崎・市原: レブラ, 5 (4), 531—541, 昭 9.
 86 (2), 175—183, 1947. 8) 農野: 結核, 17 (8), 746~753, 昭 14.
 4) 柴山・平本: 日本臨床結核, 11 (9), 昭27, 掲載 9) 戸田: 結核菌とBCG, 南山堂, 昭 24.
 予定. 10) Suter & Dubos: J. Exp. Med., 93 (6), 559—
 571, 1951.
 5) 尾田: 「広島医学」へ投稿中.

新刊

前東大教授 佐々貫之 東大教授 詫摩武人 東京警察病院長 塩沢総一 共著
 東大助教授 坂本秀夫 東大教授 美甘義夫 東京都荏原病院長 長岐佐武郎
 東大講師 島本多喜雄 東大助教授 中尾喜久 東大助教授 佐々学

新しい治療

第1集 A5判 300頁 函入
 改訂三版 定価 450円 実費

わが国独立後、米英のみならず独仏その他各国の医学の輸入が容易になると共に、治療界の進歩は実に急速にして目ざましく、従来の治療法の中には根本的に改革せねばならないものが少なくない。本書編集の目的は斯界の権威が従来の治療法中真に優れたものを考慮しつつ、新しく開拓された今日の治療法、特に実施医家に重要なものを可及的速かに紹介するにある。各人はこれを自家薬籠中に収めることにより、治療成果を飛躍的に向上することができるものと信ずる。

本社はここに新しい治療法の日進月歩の有様にかんがみ、今後も引続き集を重ねて世の待望に応えたいと思う。

内容目次: 一第1章 スルフォンアミド療法 第2章 ペニシリン療法最近の趨勢 第3章 ストレプトマイシン療法最近の状況 第4章 オーリオマイシン療法 第5章 クロロマイセチン療法 第6章 パラアミノサリチル酸療法 第7章 コンテベン(チビオン)療法 第8章 テラマイシン療法 第9章 ナイトロジェン・マスタード療法 第10章 ダイキユマロール療法 第11章 最新の駆梅療法 第12章 先天梅毒の療法 第13章 リウマチス療法と副腎皮質ホルモン 第14章 貧血の療法 第15章 乳児下痢症の療法 第16章 小児肺炎及び膿胸の療法 第17章 先天性心臓疾患の療法 第18章 小児髄膜炎の療法 第19章 デフテリアの療法 第20章 細菌性赤痢・疫痢及びアメーバ赤痢の療法 第21章 百日咳の療法 第22章 インフルエンザの療法 第23章 ハイネ・メデン氏病の療法 第24章 寄生虫病の療法

同 増 補 再 版 第2集

A5版 500頁 函入
 定価 550円 実費

内容目次: 一第1章 イソニコチン酸ヒドラジツトの臨床 第2章 抗ヒスタミン剤の臨床 第3章 アミノ酸療法 第4章 Cortisone ACTH の臨床 第5章 Acethyl choline の臨床応用 第6章 葉酸及びビタミン B₁₂ の臨床 第7章 ヒアルロニダーゼ 第8章 イオン交換樹脂による心不全浮腫治療 第9章 陽イオン交換樹脂による浮腫の治療 第10章 自律神経遮断術 第11章 腸チフスの新しい療法 第12章 猩紅熱の予防と治療 第13章 敗血症の化学療法 第14章 ウイルス肺炎とその療法 第15章 肺壞疽のペニシリン療法 第16章 亜急性心内膜炎の化学療法 第17章 不整脈剤プロカイン、アマイド 第18章 肺結核の人口気腹療法 第19章 気管支喘息の ACTH 及び Cortisone 療法 第20章 フィラリア症(糸状虫症)の新しい治療 第21章 出血傾向の治療 第22章 膿尿症 第23章 神経系領域における最新治療 第24章 神経梅毒の新治療、特にペニシリン療法最近の動向 第25章 癌腫とその治療 第26章 結核性髄膜炎の化学療法 第27章 膿胸等の治療とストレプトキナーゼ及びストレプトドルナーゼ 第28章 パーキンソン症候群疾患の薬物療法 第29章 早産児の養護 第30章 尿崩症の治療 第31章 肝硬変症の新しい治療 索引

発行所 株式 東西医学社 東京都中央区(京橋局区内)銀座西7の1
 会社 電話銀座(57)2126~2129 番振告口座東京2818番