

# 切除肺結核病巣の細菌学的研究

国立宇多野療養所(所長 日下部周利)

伊藤義昭・吉田昇

(昭和28年12月14日受付)

## I 緒言

切除肺病巣に対する検索は従来主として病理学的な面からなされており、細菌学的検索の報告はきわめて少ない。最近に至つてはじめて Medlar et al<sup>1)</sup>, 'Beck & Yegian<sup>2)</sup>等(1952)は切除肺病巣を細菌学的に検索し、興味ある所見を得ている。すなわち両者ともに病巣内に抗酸性菌を多数証明するにも拘らず、培養陰性或いは動物接種陰性の場合が屢々あることを報告し、これに就いて種々考察をめぐらしているが明確には説明されていない。又逆に抗酸性菌を認めずして、しかも培養でかなりの集落数をみる場合もあるとしているが、この点に就いての説明もない。

われわれは昭和27年来 Medlar 等とは全く別個に切除肺病巣の細菌学的検索を行い、Medlar 等の成績と類似した結果を得るとともに、これが結核菌の発育様式に関する植田<sup>3)</sup>の学説により略々解明されることを知り得たので、以下にその概要を報告する次第である。

## II 検査材料及び方法

国立宇多野療養所において昭和28年7月迄に行われた肺切除107例のうち、肺剔除1例、肺葉切除29例、区域切除14例、部分切除8例、計52例の切除標本に就いて、肺・肺葉切除の場合は多くは3~4部位を、区域・部分切除の場合は1~2部位の病巣計113部位を検索した。

標本は切除直後無菌的に各病巣を可及的独立して切開し、肉眼的病理所見を記載するとともに、病巣内容が十分に軟かな場合にはそのまま、硬い場合には乳鉢で磨砕し少量の生理的食塩水を加えて乳状として後、塗抹・培養に供した。

塗抹標本は可及的薄く作成し、染色は Ziehl-Neelsen 法、Ziehl-Heidenhain (植田)<sup>3)</sup>法を用い、100視野中の抗酸性形・易染性形(Z-H法)の菌数を算え、陰性の場合には更に100視野を追加検鏡した。

培養には小川氏培地<sup>4)</sup>(3% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>培地)を用いた。材料を無菌的に取扱い、前処置なしで小川氏培地2~3本に1白金耳ずつ接種し、更に別個に病巣の混合感染や操作中の万一の汚染を考慮して4%NaOHを等量混合して攪拌し、約5分間処置したものを2~3白金耳ずつ同様小川氏培地に接種した。判定は1ヵ月後の発育集落数を算え、陰性の場合には更に2ヵ月後まで引続き観察した。

又10部位の空洞及び軟化巣に対しては葡萄糖寒天斜

面・血液寒天斜面・同高層の3種の培地に1白金耳ずつ接種して結核菌以外の菌をも検索した。

なお5部位にすぎないが培養で陰性を予想される材料に就いて、動物接種を併せ行つた。すなわちツ反応陰性のモルモット2匹の右大腿皮下に材料の0.5ccずつを接種し、約4ヵ月後に屠殺し、接種局所・各所淋巴腺・肺・肝・脾・腎の肉眼的病変の有無を以つて判定した。

## III 検査成績

### 1 各種病巣中の結核菌

まず病巣別に培養成績と抗酸性形との関係をみると表1の如くなる。

第1表 各種病巣内の結核菌

病巣の種類	病巣内結核菌	培養(+)			培養(-)		
		抗(+)	抗(-)		抗(+)	抗(-)	
空洞	26	18	3	21	5	0	5
被包乾酪巣	融解(+)	14	7	21	10	3	13
	" (-)	3	3	6	7	12	19
撒布巣	14	4	8	12	0	2	2
気管枝	8	1	6	7	0	1	1
淋巴腺	6	0	3	3	0	3	3
計	113			70			43

註：抗は抗酸性形を表わす

1) 空洞(26部位)：空洞は一般に発育集落数が多いが、26部位のうち5部位に培養陰性例がある。このうち3例は術前に気胸を受けたものである。又培養陽性のもの21部位のうち3部位において抗酸性形を認めず、逆に培養陰性の5部位にはいずれも抗酸性形を認める。

2) 融解している被包乾酪巣すなわち軟化巣(34部位)：この中には気胸によつて濃縮化された空洞や病巣の一部分のみ軟化融解しているものも含まれており、大きさは大豆大以上である。この軟化巣においても予想に反して培養陰性が34部位中13部位もある。この中11部位まで術前に気胸を受けている。又培養陽性21部位の中7部位は抗酸性形を認めず、培養陰性13部位中10部位まで抗酸性形を証明している。

3) 融解していない被包乾酪巣(25部位)：肉眼的に融解していない病巣においても6部位に培養陽性があるが、この場合は発育集落数は一般に少数である。又この種の病巣においても培養成績と抗酸性形の菌数との不-

致を認める。

4) 撒布巢(14部位)：主病巢以外的小豆大以下の小病巢では一般に發育集落数こそ少ないが、培養陽性の場合が多い。

5) 気管枝(8部位)：病巢と関係のある気管枝内容を主に検索したのであるが、培養陽性の場合が多い。この場合も一般に發育集落数は少ない。

6) 淋巴腺(6部位)：肺門部淋巴腺4，肺淋巴腺2で半数に培養陽性である。

## 2 培養成績と塗抹検鏡所見との関係

培養で多数の集落を認める材料の塗抹検鏡所見は抗酸性形・易染性形ともに形態は一般に長く、一様に染色される場合が多い。又抗酸性形とともに易染性形も多数証明され、時には易染性形の菌数の方が抗酸性形よりもむしろ多い場合もある(図1)。更に抗酸性形を証明せずに多数の集落を発生する場合も少数例ながらあるが、この中の大部分にかなりの数の易染性形を証明する(図2)。

次に、一般に培養陰性の場合には塗抹でも陰性の例が多いであろうと予想されるが、実際はかような培養陰性例にも約半数に抗酸性形を多少とも証明する。ただし、培養陰性の或いは少数の集落を発生するに過ぎない材料では、抗酸性形を証明しても一般にその形態は短小顆粒状で、しかも菌が集合して菌塊を形成している場合が多い(図3)。

又抗酸性形を多数認め、同時に易染性形もかなりの菌数証明しながら、しかも培養陰性の場合がある。この場合の易染性形は抗酸性形とともに菌塊を形成し、その菌体は短小顆粒状で、しかもやや抗酸性色調を帯びており、培養で多数の集落を認める材料中の易染性形とは少々趣きを異にしている。かような異常な形態、染色性を示す易染性形は後述するように術前気胸を受けた例に多い(図4)(図1~4 巻頭参照)。

發育集落数と抗酸性形・易染性形の菌数との関係は表2の如くである。

このうち抗酸性形の菌数と發育集落数との関係のみに注目すると表3の如くなる。すなわち培養で發育集落数が多くても抗酸性形を証明しない場合や、逆に抗酸性形が多数みられるのに培養陰性の場合がかなりの頻度に認められ、培養成績と抗酸性形の証明とは一見無関係のようにもみえる。

これに対して易染性形の菌数と培養成績との関係のみに注目すると表4の如くであつて、若干例において不一致を示す場合はあるが、全体として易染性形の菌数と發育集落数とは略々比例する場合の方が多い。ここに培養陽性・易染性形陰性の例はともかくとして、易染性形を認めながら培養陰性の場合が7例ある。この場合の易染性形はやや異常な形態、染色性を示していることは上述の如くである。

第2表 集落数と抗酸性形・易染性形の菌数との関係

抗酸性形		(++)			(++)			(++)		
易染性形		++)(+)(-)			++)(+)(-)			++)(+)(-)		
集落数	(++)	16	3	0	2	3	0	2	5	2
	(+)	5	5	1	0	4	1	0	15	6
	(-)	3	4	11	0	0	4	0	0	21

註：表中塗抹では100視野中の各形，(++)は11以上を，(+)は10~1を，培養では(++)は集落数21以上を，(+)は20~1を，(-)は各々0を表わす

第3表 集落数と抗酸性形の菌数との関係

抗酸性形		(++)			(++)			(++)		
集落数		++)(+)(-)			++)(+)(-)			++)(+)(-)		
(++)		19	5	9						
(++)		11	5	21						
(++)		18	4	21						

第4表 集落数と易染性形の菌数との関係

易染性形		(++)			(++)			(++)		
集落数		++)(+)(-)			++)(+)(-)			++)(+)(-)		
(++)		20	11	2						
(++)		5	24	8						
(++)		3	4	36						

## 3 術前の虚脱療法と病巢内結核菌との関係

術前に行われていた虚脱療法が病巢内結核菌に及ぼす影響は表5に示す如くである。すなわち肺・肺葉切除の場合には術前に虚脱療法が施行されていた症例においても、未施行例と同様その大多数が培養陽性である。部分・区域切除例では未施行例はいずれも培養陽性であるのに対して、気胸例では抗酸性形を、時には前述の如き易染性形をも証明しながら、しかも培養陰性の場合がかなり多い。すなわち部分・区域切除例においては気胸の影響が明らかに認められるようである。しかしこの培養陰性の場合にも病巢の病理学的性状は完全な治癒とは認め難いような状態、すなわち依然として濃縮空洞のよう

第5表 術前の虚脱療法と病巢内結核菌

虚脱療法		病巢内結核菌		培養(+)		培養(-)	
		抗(+)	抗(-)	抗(+)	抗(-)		
肺葉切除例	気胸(+) (成形) 10例	8(2)	0	8	0	2	2
	" (-) 20例	15	3	18	2	0	2
部分区域切除例	気胸(+) 13例	4	0	4	7	2	9
	" (-) 9例	7	2	9	0	0	0

註：各切除肺毎に一部位でも菌が陽性の場合には陽性とした

な軟化融解集のままである場合が多いことが注目される。又この場合気胸と化学療法とを併用しているものは9例中2例にすぎず、他の例は気胸のみを受けたものである。

4 術前の化学療法と病巣内結核菌との関係

次に問題になるのは術前の化学療法との関係であるが、われわれの症例では化学療法を受けている期間が一般に短かく、薬剤の種類・使用法・量及び化学療法を受けた期間と手術迄の期間等も区々であり、且つ化学療法と虚脱療法とを併用している場合もあつて、化学療法の影響を厳密に検討することには多少の困難を感じた。しかしながら一応術前に化学療法を受けたものに就いて、病巣内結核菌を検索すると、その成績は表6の如くである。表に(+)としたものは術前3~4カ月間に亘り化学療法を受けたもの、すなわちSM 35g, PAS 1200gの間歇併用療法を受けた程度のものであるが、これが最も多く、化学療法を受けた40例中24例をしめている。

第6表 術前の化学療法と病巣内結核菌

化学療法	病巣内結核菌	培養(+)		培養(-)	
		抗(+)	抗(-)	抗(+)	抗(-)
化学療法	10例	7	3	10	0
+	24例	18	1	19	4
±	6例	3	1	4	2
-	12例	6	0	6	3

註：(++)は術前約5カ月以上, (+)は3~4カ月, (±)は術前数日程度化学療法を受けたものを示す

一般に広範囲の病巣を有するものに化学療法が行われている場合が多いのであるが、この場合は培養陽性例が多い。又小範囲の病巣殊に気胸例では化学療法を受けないでしかも培養陰性の場合が屢々ある。すなわち、化学療法が病巣内結核菌に及ぼす影響は虚脱療法の場合に認められた程には明瞭ではない。とはいえ、個々の例の病巣中には一見化学療法の影響を示しているかの如き所見がないでもない。

第7表 術前SM投与と病巣内結核菌SM耐性

術前投与	耐性度	100Y耐性 10Y耐性 感性		
		SM80~20g	26株	
20g以下	32株			32
計	58株		5	53

なお培養で得た菌の中SM耐性を検し得たのは58株である。検査方法はキルヒナー液体培地1ccに各々100Y, 10Y, 0YにSMを含有せしめ各菌株の約1mg/cc菌液1白金耳ずつを接種し、10日目に判定した。結果は表7に示すように耐性菌は予想外に少なくSM 10Y耐性

が5株であつた。これらは空洞或いは軟化集中の菌であつて、SM 20~35gを1例には単独で、他の4例ではPASと併用して投与している。

5 結核菌以外の菌に就いて

前処置なしに培養して明らかな汚染をみたのは肺門部気管枝内容の1例のみで、他の培地での検索においては少数例ながら空洞内容1部位に双球菌2集落をみた他はすべて陰性である。

6 動物接種成績

例えば気胸によつて濃縮或いは限局化した病巣に対して部分・区域切除を行つた症例のように培養陰性を予想される材料5例に就いて動物接種を行つた。

その結果は培養陽性・動物接種陽性1例、培養陽性(2集落)、動物接種陰性1例、培養・動物接種ともに陰性3例であつて、少数例ながら動物接種成績と培養成績とは略々一致する。

7 培養条件の1, 2に就いて

前処置なしに培養する場合、培養基として小川氏培地の3% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>培地と1% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>培地を用いた場合を21例において比較してみたが、両者の間には発育集落数に著しい相違を認めなかつたので、日常喀痰検査に用いる上記3%培地を全例に用いた。

又4% NaOH 処置、上記3%培地接種と前処置なしに3%培地接種とを比較すると、アルカリ処置例では多くの場合著明な発育集落数の減少を示す。すなわち集落数が前処置なしの場合のその1/2~1/4に迄減少するために、前処置なしの場合少数の集落を認めてもアルカリ処置接種では陰性となる場合がかなりある。

III 考 按

以上の如くわれわれの得た検査成績は前述した Medlar, Beck 等の成績と広く一致している。すなわち、抗酸性形を多数に証明する組織でありながら、培養が陰性のものが屢々あり、しかもこのことは化学療法を受けていない場合においても認められる。逆に抗酸性形を証明せずしてしかも培養により多数の集落を認める場合も又かなりある。この抗酸性形の菌数と発育集落数との不一致、とくに抗酸性形陽性・培養陰性の場合を考察して、Medlar, Beck 等は(1)化学療法により死菌となつたものであるか、又は(2)菌が病巣内で特異な Stage にあつて、通常の培養法や動物接種法では成功しないのであろうと推測している。しかしながら、かかる不一致は化学療法を受けていない場合にも認められ、又 Canetti も化学療法剤の出現以前に剖検材料に就いての検索により、類似の所見を観察している点から考えて、少なくとも(1)の考え方のみでは説明し尽されない。(2)の解釈も勿論全く否定し得ないとしても充分にわれわれを首肯せしめ得ない。のみならず、抗酸性形陰性・培養集落多数の場合に就いては全然考察されていない。

植田<sup>2)</sup>は結核菌の発育初期菌膜等の観察で、発育の初期には易染性形を比較的多く、配列の先端に認めることから、結核菌の発育形は易染性形であり、抗酸性形は発芽後の変性形ではなからうかと考えた。この考え方は感染動物の病巣内における各形の消長や人体病巣における観察、特に外科的結核症の膿汁中に抗酸性形の証明が困難であるにもかかわらず培養で多数の集落を認める場合、その材料においてかなり容易に易染性形を証明し得ること等によつて更に確実性を得ている。

さてわれわれの観察でも易染性形と培養成績とは多少の例外はあるとしても大体よく一致しているし、抗酸性形を変性形と見做せば培養成績と抗酸性形の菌数との不一致も又よく説明される。すなわち従来<sup>1)</sup>の如く抗酸性形のみ注目すれば、菌数と培養成績との不一致は到底理解し難いが、易染性形を考慮に加えた場合には上記の事実はよく説明され得る。

しかしながら、われわれは易染性形の菌数と培養成績との不一致特に易染性形陽性・培養陰性の例があることをも観察した。これは植田<sup>2)</sup>の考え方と一見矛盾した事実のようであるが、このような培養陰性の場合にみられる易染性形は、前述の如く虚脱療法等の影響によつて抗酸性に変化するに至らずして、易染性の性質を保つたままに発育力を失つた状態ではなからうかと考えられる。勿論この点に就いては更に詳細な検討を要するであろう。

又撒布巣においては抗酸性形を証明し難い場合が多く、しかもその大部分において培養で比較的少数の集落を認める点に就いては、植田<sup>2)</sup>の病巣内における各形の消長に関する考察を適用すればよく理解されるのではなからうか。すなわち切除の行われるのは病巣が一応鎮静期になつている場合であり、抗酸性形は既に崩壊し少数の生菌のみ残存している状態ではなからうかと考えられる。これに対して撒布巣より大きい病巣においては培養陰性でも抗酸性形を多数に証明する場合が多い。この点に就いてはこれ等の病巣の歴史は比較的複雑であろうと考えられ、その或場合には結核菌の発育が顕著な時期に何らかの影響、例えば虚脱療法等による病巣内の環境の急な変化が加つて抗酸性形の崩壊が起らず、又同時にそこにある易染性形も発育力を失つてしまう場合があるのではなからうかと考えられ興味ある問題である。

術前の治療と病巣内結核菌との関係に就いては方法的に病巣の全部分をくまなく検索した訳ではないので、得られた成績が病巣全体の菌所見を示すものではないことを顧慮しつつ論じなければならぬと思う。

空洞や軟化巣の中で培養陰性のもは術前に気胸を受けている場合が多く、手術別にみると部分・区域切除例で気胸を受けていない症例はいずれも培養陽性であるのに対して気胸を受けている症例では培養陰性が多くなつている。肺葉切除例のように切除された病巣が比較的広

範囲のものでは虚脱療法の影響は認め難い。もとより手術は明らかな虚脱療法不成功例か、或いは気胸を継続しても陰影が或程度以上に消退しないものすなわち広義の不成功例に対して行われたのではあるが、病巣内の菌所見のみからすれば、部分・区域切除によつて得られたような小範囲の病巣においては気胸が或程度迄有効であつたように認められる。ただし、かような培養陰性化した病巣でも、その肉眼的・組織学的所見は依然として軟化巣又は空洞といわれる状態のままであつて、完全な治癒とは認め難い場合の多いことは注目すべき所見である。

化学療法と病巣内結核菌との関係に就いては、われわれのとりあつた検査対象には手術前に強力に化学療法が行われたものが少ないことにもよるが、化学療法のみによつて、培養陰性化したと認められる症例は殆んどなく、虚脱療法における程明瞭な関係が認められない。細菌学的な見地からみた化学療法の効果、とくに耐性の問題に関しては今後更に詳細な検討を進める予定である。

次に混合感染の問題であるがわれわれの得た成績によれば、従来の諸家<sup>1), 2)</sup>の報告と同じく、病巣内混合感染は全く否定し得ないとしても事実上稀なものようである。

なお、培養法に就いて植田・大岩<sup>3)</sup>は  $H_2SO_4$  前処置が発育集落数を著明に減少せしめることを報告しているが、われわれも  $NaOH$  前処置が同様に集落数の減少を来すことを知つた。これは植田等も述べているように結核菌の中には酸やアルカリの処置によつて発育力を失う弱抵抗性の形態が含まれている為かと考えられる。従つて、病巣内容のように無菌的に採取し得る材料の培養は前処置なしで行われるべきであろう。

さて、以上の検索によつてわれわれは生体病巣内の結核菌に関して若干の新しい知見を加へ得たと考えるが、これらの知見は虚脱療法や化学療法の複雑な奏効機転や切除療法の限界等の解明に就いて細菌学的な面から一つの示唆を与えるものではなからうか。ただし現在の段階は単に研究の出発点を示したというに過ぎず、問題はなお将来に残されており、今後病理学的所見とくに虚脱療法等の治療によつて招来される病巣内の化学的な環境の変化が結核菌に及ぼす影響や化学療法の影響に就いて、更に詳細に検討を進めたいと考えている。

#### IV 結 言

52例の切除肺中の 113部位の結核病巣を細菌学的に検索して次の結果を得た。

1) 培養成績と抗酸性形の菌数とは著しい不一致を示す場合が多く、これに反して培養成績と易染性形の菌数とは比較的よく比例する。然し易染性形の中にもやや異常な形態、染色性を有し培養陰性の例がある。

2) 術前に気胸が行われた病巣、とくに小範囲限局性

の病巣ではたとえ空洞、軟化巣であつても、培養陰性化している場合が屢々ある。その際抗酸性形は殆んど例外なく証明される。

3) 化学療法と病巣内結核菌の形態、発育力等との間には明瞭な関係を見出し得なかつた。

4) 結核病巣における混合感染は事実上認められないようである。

5) 培養の際の NaOH 前処置は発育集落数を著明に減少せしめる。従つて病巣内容のように無菌的に採取し得る材料の培養は前処置なしで行われるべきである。

擧筆に当り御指導御校閲を賜つた所長日下部周利博士、京大結研植田三郎教授、同長石忠三教授に満腔の謝意を表するとともに、終始御鞭撻御教示を賜つた外科医長香川輝正博士に衷心より感謝する。

(なおこの研究は厚生省治療研究費の補助によるものである。日下部周利)

#### 文 献

- 1) Medlar, E.M., et al: Am. Rev. Tuberc., 66: 37, 1952.
- 2) Beck, F., & Yegian, D.,: Am. Rev. Tuberc., 66: 44, 1952.
- 3) 植田三郎: 結核菌の研究 1, 昭 26, 南江堂.  
" : Tuberculology, 13: 3, 79, 1953.
- 4) 小川辰次: 結核菌検索の基礎と応用, 昭 26, 保健同人社.
- 5) Canetti, G.,: Rev. Tuberc., 10: 26, 1946.
- 6) 河盛勇造: 結核, 27: 477, 昭 27.

# 切除肺結核病巣の細菌学的研究

伊藤 茂昭・吉田 昇

図1 空洞(右全剝施行) 抗酸性形(卅) 易染性形(卅) 培養(卅)

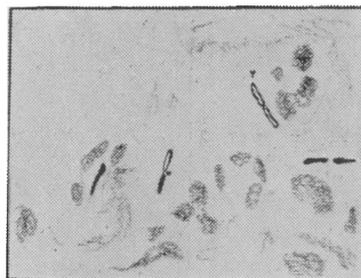
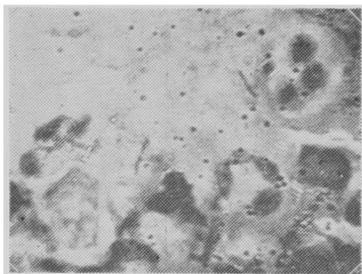


図2 軟化巣(右区域切除施行) 抗酸性形(-) 易染性形(+) 培養(卅)

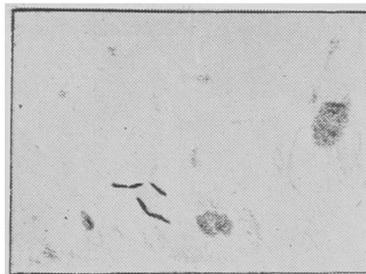
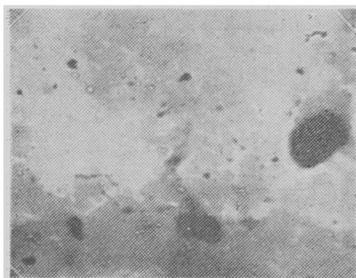


図3 濃縮空洞(左上葉切除施行) 抗酸性形(卅) 易染性形(-) 培養(-)

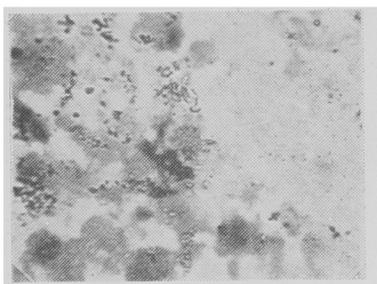
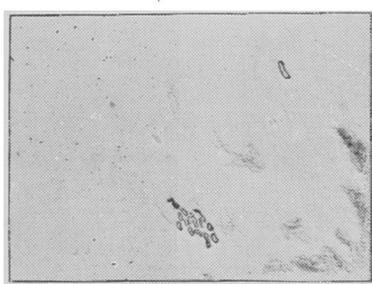
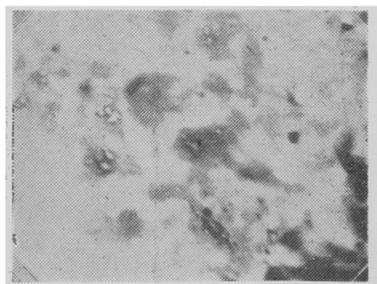


図4 結核腫一部融解(右区域切除施行) 抗酸性形(卅) 易染性形(+) 培養(-) モル接(-)



(○ 抗酸性形 ● 易染性形)