

## 抗酸性菌の分類に関する研究

## 第6編 全編の総括および結論

札幌医科大学衛生学教室 (主任 金光正次教授)

荒 木 雅

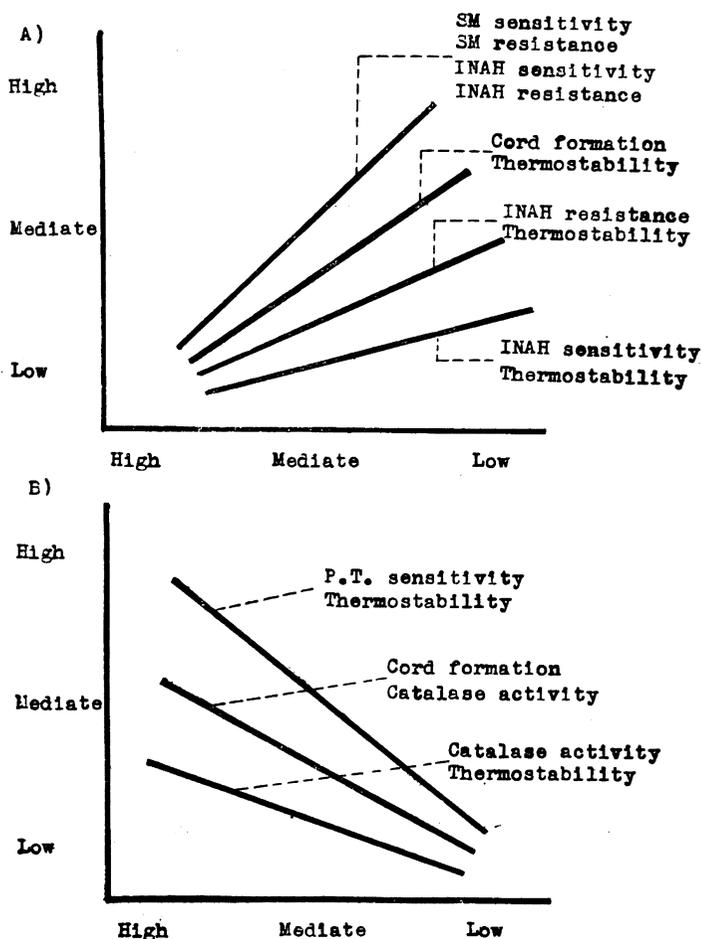
(受付 昭和 30 年 5 月 20 日)

抗酸性菌の中で結核菌は、その特異な細菌学的諸性状により独立の属をなしているが、広く自然界に存在するいわゆる非病原性抗酸性菌については、古くから研究が重ねられて来たにもかかわらず<sup>1)-12)</sup>いまだ適切な分類の方法が見出されていない。私は、前5編<sup>13)-17)</sup>の報告において、これらの抗酸性菌について諸種抗結核剤に対する感

受性ならびに耐性獲得の状態、テルル酸塩に対する態度、耐熱性、抗煮沸性、諸種の酵素作用、各種培地における発育の状況等を観察し、これらの諸性状の間の関係を述べて来たが、本報では以上の所見を総括して本菌群を分類する際の基礎となる性状について考察を試みた。

## 1) 抗酸性菌の諸性状間における関係

Fig. 1. Relations among several bacteriological characters of acid-fast bacteria



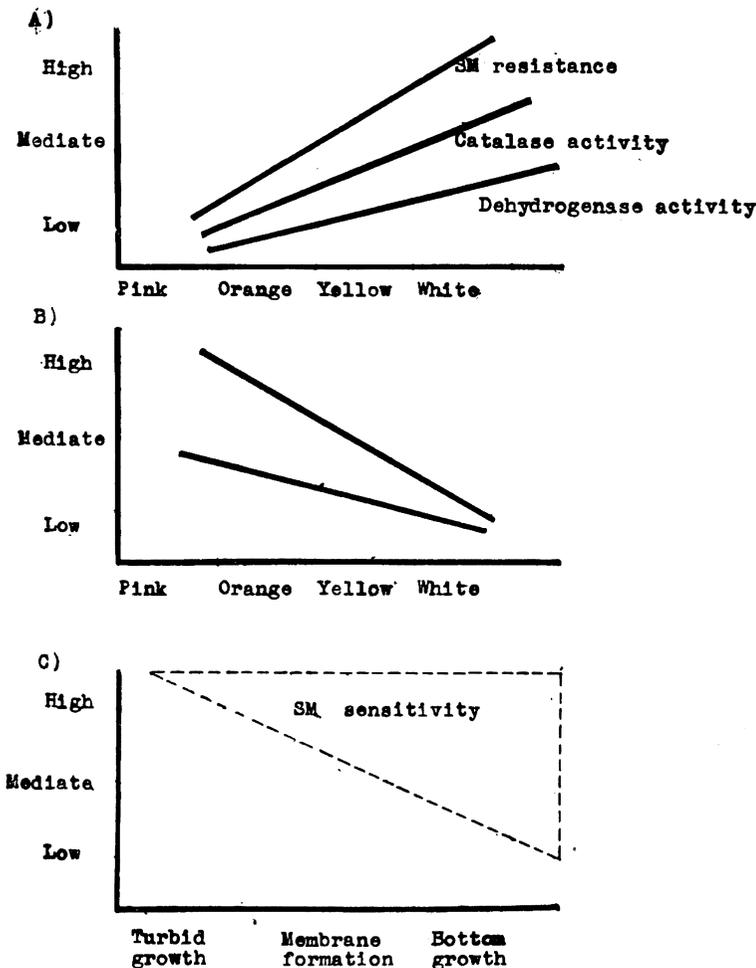
## A) 各種性状の間の量的関係

第1図A)は、互いに順相関関係の認められた性状を示したもので、縦軸と横軸にそれぞれの性状をその強弱に従って排列し、各性状間の関係の緊密度を直線の傾斜の強さによつて表わしている。図に示す如く、相互の関係の最も緊密な性状は、原株のINAH感受性とINAH耐性上昇度および原株のSM感受性とSM耐性上昇度とであり、いずれも原株の感受性が強い菌株程その薬剤に対して高度の耐性を獲得し易い。次にこれよりやや軽度であるが、Dubos培地におけるコード形成の程度およびINAHに対する耐性上昇度と耐熱性との間にそれぞれ特定の関係がみられ、強いコード状排列を示す菌株およびINAHに対して耐性となり易い菌株はいずれも耐熱性が高い。さらに原株のINAHに対する感受性の強い菌株は、耐熱性もまた高い傾向が認められる。このように抗酸性菌においては、

温熱に対する抵抗性が他の多くの性状に対し、特異な関係を有することから、本菌群の分類上有力な因子の一つであると考えられる。また INAH 感受性と INAH 耐性上昇度との間に密接な関係があり、かつ耐熱性と INAH 感受性および耐性上昇度との間においてもそれぞれ特定の関係が認められたにもかかわらず、SM の場合にはこのような関係が全くみられない点より、本菌群に対する SM と INAH の作用機序がそれぞれことなるものと想像される。次に逆相関の認められた性状についてであるが、図 1B) に示す通り、相互の関係が最も緊密なものはテルル酸加里感受性と耐熱性で、次でコード形成とカタラーゼ作用、およびカタラーゼ作用と耐熱性とである。すなわち耐熱性の強い菌株程テルル酸塩に対して感受性が低く、強いコード形成をあらわす菌株はカタラーゼ作用が弱い。さらにこれよりやや軽度であるが、耐熱性の強い菌株程カタラーゼ作用が弱い傾向がある。テルル酸加里については前編<sup>14)</sup>で詳述した通り、Coper<sup>18)</sup>

が化学療法剤としての価値を研究し、結核菌が本剤を還元することを報告してから種々の細菌学的研究が行われている。特に林<sup>19)20)</sup>、内藤<sup>21)</sup>は、本剤を用いて結核菌と非病原性抗酸菌の鑑別が可能であることを明らかにしているが、さらに私の実験から自然界抗酸菌は、本剤に対する感受性によつておよそ4つの群に分けられ、他の2、3の性状との間に密接な関係のあることを知った。また自然界抗酸菌のカタラーゼ作用と耐熱性との間に一定の関係がみられたことは、従来本菌群の酵素作用が主として結核菌との鑑別という観点から論じられていたことからして、甚だ興味深い現象と思われる。この問題について Edwards<sup>22)</sup>等は、*B. mycoides*, *B. cereus*, *B. alvei* および *B. subtilis* 等計 104 種の細菌における最高発育温度と Indo-phenol oxidase, Catalase, Succinodihydrogenase が不活性化される最低温度を測定し、菌の耐熱性と呼吸酵素との間に密接な関係のあることを報告しているが、抗酸菌においても上述の如き成績が

Fig. 2. Relations between several bacteriological characters and colonial growth characters of acid-fast bacteria on solid and in fluid media



みられたことは、カタラーゼ作用は、前述の耐熱性と共に本菌群を分類する上に有力な指標になるものと思われる。

B) 質的性状と量的性状との関係

前項では、各性状について測定した値の量的関係を述べたが、次に2、3の性状の属性と量的関係について考察したい。すなわち前項で述べた如く、全菌群を4種の色調に分け、これと他の諸性状との関係を観察したところ第2図A)およびB)に示す成績を得た。すなわち SM に対する感受性および SM 耐性上昇度、カタラーゼ作用およびテルル酸加里感受性とコロニーの色調との間に、それぞれの関連性が認められた。

まず SM に対する耐性上昇度であるが、同図 A) に示すように紅色系では本剤に対して耐性を得難く、白色系では得易く、黄橙色系では両者の中間に位している。またカタラーゼ作用は、着色系において、紅、橙、黄色の順で段階的に増強する傾向がみられ、次に脱水素酵素作用との関係

は、着色系株にはこの作用を欠くものが多いが、白色系では大多数がこの酵素を保有しており、これを欠くものは前者に比べて著しくすくなく、この傾向は琥珀酸脱水素酵素において特に著明である。また同図 B) に示す如く、SM に対する感受性は、紅色系では極めて強く、以下、橙、黄、白の順に漸次弱くなるが、テルル酸加里感受性においてもほぼ同様の傾向がみられる。以上の如く、SM 感受性ならびにその耐性上昇度、カタラーゼ作用、脱水素酵素作用、およびテルル酸塩に対する態度がコロニーの色調により、おおむね、紅、橙、黄、白色系の順序で段階的に変化する傾向がみられ、特に紅色系と白色系では、これらの性状が著しく相反的であることは、従来、本菌群の分類がコロニーの色調を基準として行われて来た理由をさらに強化するものと思われ、“色調による分類法”に新たな意義を加えたものと考えられる。また、細菌の産生する色素と呼吸酵素との関係については多くの研究があるが<sup>23)24)</sup> 抗酸菌においてコロニーの色調とカタラーゼ作用および脱水素酵素作用との間に見出された関係は、この点において興味ある所見と思う。

次に Kirchner 培地における発育状態を管底発育、菌膜形成、および平等溷濁の 3 群に大別して他の諸性状との関係を観察した結果、SM 感受性との間に同図 C) に示す如き関係が認められた。すなわち本培地で溷濁発育する菌株は、SM に対して感受性が強く、かつ発育阻止濃度の幅は狭いが、菌膜を形成する菌株では感受性の弱いものが増加するために、阻止濃度の幅が拡大し、管底発育を営む菌株は、感受性の弱いものがさらに多くなる結果、発育阻止濃度(感受性)の幅は著しく増大している。

以上は、本菌群を大局的に観察して、性状と性状との間に特異な関連のあるものを総括したものであるが、次に、始めに特定の性状を基準として分類した場合、その他の性状の間に如何なる関係があるかを観察したところ、次の如き興味ある成績を得た。

1) 岡・片倉培地におけるコロニーの色調を基準とした分類

まず SM 感受性についてみると、着色系では感受性の高い菌株が圧倒的に多いが、白色系では中等度のものが大多数を占めている。しかし INAH 感受性は黄色系において高率な他、コロニーの色調との間に特に関係は認め難い。次に SM に対する耐性上昇度を比較すると、白色系では上昇度が一般に低いが、橙、紅色系では高い耐性を獲得するものが多く、特に紅色系において極めて顕著であつて、この点白色系と著しい差異を示している。これに対し INAH 耐性上昇度はいずれの群においても低く、各群に共通の性状と思われる。

次に酵素作用を比較すると、乳酸脱水素酵素は各群を通じて中等度以上の強さを有する菌株が多く、共通の性

状であるが、琥珀酸脱水素酵素とカタラーゼは、白色系では弱い菌株が多いに反し、着色系では一般に強いものが多く(ただし紅色系のカタラーゼは例外である)この点においても白色系と着色系とは、かなりことなるようである。耐熱性および抗煮沸性は各群共中等度以下のものが大多数を占めており、コロニーの色調とは関連がない。次にテルル酸加里に対する感受性を高群(1%および2%の濃度で発育が阻止されるもの)と低群(3%および4%の濃度で発育が阻止されるもの)の2群に分けて観察すると、白色系では、大多数の菌株は低群に属しているが、着色系では高群が多く、特に橙系および紅色系ではほとんどすべての菌株は著しく感受性が高く、白色系とは相反的である。しかし Kirchner 培地における発育状況では、いずれの群でも管底発育を営むものが大部分を占めており、色調との間に特に関係はない。従来、細菌の生活過程に産生される色素は、細菌学者の興味深い研究対象として種々の業績が残されているが<sup>23)~27)</sup>これを分類に応用した好適例として Rosenbach<sup>28)</sup> Passet<sup>29)</sup>の研究がある。氏等は、固型培地におけるコロニーの産生色素を基準として葡萄球菌類の基礎を確立している。しかし自然界抗酸菌においては、集落の色調の性状が種々雑多であり、かつその変異性も合せ考えると、これを基準として分類することは、他の色素産生細菌に比し遙かに困難である。

Frey & Hagan<sup>30)</sup>は、土壌から分離した抗酸菌をコロニーの色調および発育状況によつて分類し、戸田・占部<sup>31)</sup>は、自然界抗酸菌を暫定的にコロニーの色調によつて分類することが便利であると述べ、さらに佐藤・井田<sup>3)</sup>は、本菌群のコロニーの色調を B.C.C.S. (The British colour Council Dictionary of colour standards) を基準として詳細に観察し分類を試みている。しかしこれらの研究では、コロニーの色調と他性状との関連性については深く追究していないので、分類の細菌学的根拠が浅いように思われる。これに対し、草場<sup>3)</sup>は、カタラーゼ作用の強い菌株は、すべて橙系に属すると云う極めて興味ある報告を行つているが、上述の私の成績を総括すると、INAH 耐性度、乳酸脱水素酵素作用、耐熱性、抗煮沸性、コード形成および Kirchner 培地における発育状態の点では、各群共、コロニーの色調に關せず同じ性状を示しているが、SM 耐性度、琥珀酸脱水素酵素、カタラーゼ、テルル酸加里感受性については、白色系菌株と着色系菌株の間に相反する性状が認められることより、抗酸菌の分類上、白色系は、独自の群として取扱うのが適切に思われる。なお各種の酵素作用、薬剤に対する態度、熱およびテルル塩に対する態度等の相互的關係が、抗酸菌のコロニーの色調によつておのおの異なることは、興味あることと思う。

2) 耐熱性による分類

**Table 1** Classification of acid-fast bacteria according to the color tone of colonies grown on Oka-Katakura media.

	Drug sensitivity			Drug resistance		Dehydrogenase Succinic Lactic acid	Catalase	Thermo- stability	Potassium ferrate sensitivity	Preis reaction	Cord forma- tion	Bacillary forms	Kirchner's medium				
	SM	INAH	PAS	SM	INAH												
White	High	2	17		2	0	4	8	5	6	4	8	L	2	B	19	
	Mediate	19	0	1	9	11	5	5	8	8	11	8	S	14	T	0	
	Low	1	5	14	11	11	11	5	5	9	6	16	10	6	1	6	M
Yellow	High	13	10		7	0	7	6	9	0	9	3	3	L	3	B	13
	Mediate	2	3		2	3	5	5	6	3		3	4	S	9	T	2
	Low	0	2	10	6	12	1	2	0	12	6	9	9	5	I	3	M
Orange	High	11	5		8	0	3	3	5	1	10	1	3	L	1	B	7
	Mediate	0	2		1	3	0	2	6	2		4	1	S	9	T	2
	Low	1	5	7	3	9	1	0	1	9	2	7	7	I	2	M	3
Pink	High	20	9		20	1	4	6	1	1	21	3	6	L	4	B	13
	Mediate	1	4		1	3	6	7	9	13		9	8	S	7	T	3
	Low	0	8	8	0	17	1	2	11	7	0	9	6	I	10	M	5

In the column of bacillary forms: L=Long S=Short I=Irregular

In the column of Kirchner's medium; B=Bottom growth T=Turbid growth M=Membrane formation

Table 2 Classification of acid-fast bacteria according to the thermostability.

	Drug sensitivity			Drug resistance			Dehydrogenase Succinic Lactic acid	Catalase	Potassium tellurate sensitivity	Cord forma- tion	Preis- reaction	Bacillary forms	Kirchner's medium	Oka-Katoku- ra medium			
	SM	INAH	PAS	SM	INAH												
A	High	2	4	0	2		1	1	1	5	0	L	1	B	6	W	5
																Y	0
	Mediate	4	0	0	1	3	1	3	3	1	3	S	5	T	0	O	1
A	Low	1	3	2	4	4	4	2	4	6	1	I	1	M	1	P	1
	High	18	21	0	16	1	7	9	5	20	7	L	2	B	20	W	11
B	Mediate	11	3	0	7	12	3	8	12		12	S	14	T	2	Y	3
																O	2
	Low	0	5	19	6	16	9	3	12	9	8	I	13	M	7	P	13
C	High	26	16		19		10	13	15	25	8	L	7	B	25	W	6
																Y	12
	Mediate	7	6	1	5	5	7	9	14		8	S	21	T	5	O	9
C	Low	1	12	19	10	29	5	3	5	9	16	I	6	M	4	P	7

In the column of bacillary forms; L=Long S=Short I=Irregular

In the column of Kirchner's medium; B=Bottom growth T=Turbid growth M=Membrane formation

In the column of Oka-Katakura medium; W=White Y=Yellow O=Orange P=Pink

**Table 3** Classification of acid-fast bacteria according to the Preis reaction.

	Drug sensitivity			Drug resistance			Dehydrogenase Succinic acid	Lactic acid	Catalase	Thermo- stability	Potassium tellurate sensitivity	Cord forma- tion	Bacillary forms	Kirchner's medium	Oka-Kataku- ra medium				
	SM	INAH	PAS	SM	INAH														
A	High	5	3	0	5	0	4	6	3	0	9	3	L	4	B	11	W	4	
	Mediate	7	4	0	3	4	2	3	4	6			6	S	7	T	1	Y	3
		Low	0	5	7	4	8	2	0	5	6	3	2	I	1	M	0	O	2
B	High	17	16	0	14		6	8	6	3	17	5	L	2	B	14	W	8	
		Mediate	7	3	0	6	7	4	6	12	13		8	S	16	T	2	Y	3
	Low	0	5	16	4	17	7	3	6	8	7	10	I	6	M	8	P	4	
C	High	23	22	0	18	1	8	9	11	4	20	12	L	4	B	27	W	10	
		Mediate	9	2	1	4	9	5	10	13	10		7	S	17	T	4	Y	9
	Low	2	10	17	12	24	10	6	10	20	14	12	I	13	M	3	O	6	
																		P	9

In the column of bacillary forms; L=Long S=Short I=Irregular

In the column of Kirchner's medium; B=Bottom growth T=Turbid growth M=Membrane formation

In the column of Oka-Katakura medium; W=White Y=Yellow O=Orange P=Pink

次に被検菌を耐熱性の強弱により、A(70°C以上10分間の加熱で死滅するもの) B(65°C 10分間) C(60°C以下10分間)の3群に分け、各群について前項と同様に各種の性状ならびにその相互の関係を観察すると第2表の如くである。まず各種薬剤に対する感受性についてみると、SM, INAHの場合では一般に感受性の強い菌株が多く、特にSMではC群に、INAHではB群にこの傾向が著明である(しかしSMのA群では中等度の感受性を有する菌株がやや多くなっている。)これに対しPASに対しては各群を通じ感受性の弱い菌株が著しく多く、これと耐熱性との間には関係はない。すなわちINAH SMに対する感受性は、各群菌株共に高く、PASでは低く、これらは各群に共通の性状と認められる。一方耐性上昇度との関係をみると、A群では、SMに対し耐性上昇度の低い菌株が多く、B, C群では、高い耐性を獲得する菌株が比較的高率を示し、A群とC群とは相反的であるが、このような関係はINAHでは認められない。

さらに興味あることは、酵素作用との関係である。すなわちA群には乳酸および琥珀酸脱水素酵素作用およびカタラーゼ作用共に中等度以下の強さの菌株が著しく多いのに対し、C群では上述の3種酵素作用のいずれも強い菌株が多く、この際にもA群とC群とは著しい対照を示している。また表に明らかな如く、耐熱性とカタラーゼ作用との間に見たと同じ関係は、耐熱性とテルル酸加里感受性との間にも認められるが、耐熱性とコード形成との間にはこれと相反的關係が成立している。さらに抗煮沸性、菌の型態、Kirchner培地における発育状況では、各群において著しい差異はなく、耐熱性との関係は認められないが、C群では、岡・片倉培地において白色系の菌株が著しく多い。以上を総括すると、各種薬剤に対する感受性、INAH耐性上昇度、抗煮沸性、菌の型態、およびKirchner培地における発育状態の点では耐熱性の如何にかかわらず各群において共通の性状を示すが、乳酸および琥珀酸脱水素酵素作用、カタラーゼ作用、テルル酸加里感受性、ならびにコード形成については、いずれも耐熱性の強い群と弱い群との間に相反する性状を認めた。従来、抗酸菌の耐熱性による分類としては、前記の如くGordon<sup>9)10)</sup>が、菌の耐熱性を、殺菌温度と発育温度を測定することによつて決定し、これと糖分解能との関係から分類を行つている他Schlossberger<sup>等32)</sup> Lange,<sup>33)</sup> 占部<sup>2)</sup>等は、発育温度域による群別を試みている。しかし、前項の色調の場合と同様、この際にも、耐熱性以外の諸性状との関連性を詳細に検討した研究は極めてすくなく、本実験で得られた成績は、耐熱性を基準として抗酸菌を分類する上に新しい意義を有するものと思う。

### 3) 抗煮沸性による分類

最後に全菌株を抗煮沸性の強弱によつてA(61~90秒間で脱色されるもの) B(41~60秒) C(40秒以下)の3群に分け、これと他の諸性状との関係を観察すると第3表の如くである。

まず各種薬剤に対する感受性であるが、耐熱性によつて分類した場合と同様SMに対しては、いずれの群においても中等度以上の感受性を有する菌株が多く、またPASに対する感受性は共に著しく低く、これと抗煮沸性との間には特に関連はない。これに対しINAH感受性は、A群では過半数の菌株が中等度ないし低群に属しているが、B, C群では高群の菌株が多く、A群とC群は相反的である。しかしSMとINAHに対する耐性上昇度においては、表に示す如く抗煮沸性の如何にかかわらず、各群を通じほとんど同様な傾向がみられる。次に琥珀酸脱水素酵素作用は、A群では中等度以上の強さを有する菌株が多いに反し、C群では弱い菌株が多く、A群と著しい差異を示しているが、抗煮沸性と乳酸脱水素酵素作用との間の関係は前者程著明でない。次にカタラーゼ作用は、A群では大多数の菌株が中等度以下の強さを示すが、C群では中等度以上の強さを有する菌株が多く、この際においても諸種の酵素作用と抗煮沸性の強弱との間に相反的性状が存するように思われるが、前項の耐熱性によつて分類した場合程顕著ではない。又抗煮沸性と耐熱性、テルル酸加里感受性、コード形成および菌の型態、諸種培地における発育状態の間には特に密接な関係は認められない。抗酸菌の抗煮沸性に関しては、Kauffmann<sup>34)</sup> Preis<sup>35)</sup> 戸田<sup>36)</sup>、広木<sup>37)</sup>、矢戸<sup>38)</sup>等によつて研究されているが、これらは主として結核菌と非病原性抗酸菌との鑑別という観点から論じられている。さらに占部<sup>2)</sup>は、抗煮沸性と病原性、発育状況、および集落の性状との関係を考察しているが、抗煮沸性による非病原性抗酸菌の系統的分類は不可能であると報告している。しかし私の成績によれば、抗煮沸性の強弱とINAH感受性、琥珀酸脱水素酵素作用およびカタラーゼ作用の間には、それぞれかなり密接な関係が認められるので、抗煮沸性は、前記諸家の云う如く、単に非病原性抗酸菌と結核菌との鑑別に役立つばかりでなく、自然界抗酸菌を分類する上に、前述の岡・片倉培地におけるコロニーの色調および耐熱性と共に、重要な1性状であると考えられる。

本論文の要旨は、第30回日本結核病学会総会および第5回結核病学会北海道地方会においてそれぞれ発表した。

稿を終るに当り、恩師金光正次教授の終始御懇篤なる御指導に対し、深甚なる謝意を捧げる。

## 文 献

- 1) 戸田：日新医学，32，591，昭18。
- 2) 占部：福岡医科大学雑誌，29，2854~3080，昭11。

- 3) 草場：レブラ， 9， 625～669， 昭13.  
 4) 草場：レブラ， 9， 753～824， 昭13.  
 5) 佐藤・井田：実験医学雑誌， 23， 215， 昭14.  
 6) 佐藤・井田：実験医学雑誌， 23， 489， 昭14.  
 7) 佐藤・井田：実験医学雑誌， 23， 718， 昭14.  
 8) 内藤：実験医学雑誌， 21， 1065， 昭12.  
 9) R.E.Gordon : J.Bact., 34, 617, 1937.  
 10) R.E.Gordon & W.A.Hagan : J.Bact., 36, 39, 1938.  
 11) G.Penso : Bacilles Tuberculeux et Paratuberculeux, 1952.  
 12) 平本 : J.Antibiotics, 12, 658, 1952.  
 13) 荒木 : 結核, 30, 19, 昭30.  
 14) 荒木 : 結核, 30, 31, 昭30.  
 15) 荒木 : 結核, 投稿中.  
 16) 荒木 : 結核, 投稿中.  
 17) 荒木 : 結核, 投稿中.  
 18) H.Coper : J.Inf.Dis., 16, 47, 1915.  
 19) 林 : 細菌学雑誌, 5, 441, 昭25.  
 20) 林 : 細菌学雑誌, 5, 445, 昭25.  
 21) 内藤 : 広島医学, 5, 379, 昭27.  
 22) O. F. Edwards & L.F.Rettger : J.Bact., 34, 489, 1937.  
 23) M. X.Sullivan : J.Med. Res., 14, 109, 1905.  
 24) M.Stephenson : Bacterial metabolism, 2nd. ed., 29, 1939.  
 25) G. W. Boland : Zbl. Bakt., 25, 897, 1899.(引用)  
 26) 山下 : 医学研究, 16, 1203, 17.  
 27) 未松 : 大坂府立衛生研究所報告, 2, 110, 昭28.  
 28) F. J. Rosenbach : Mikroorganismen bei den Wundinfektionskrankheiten, 1884. (引用)  
 29) Passet : Fort.Med., 3,33, 1885. (引用)  
 30) C.A.Frey & W. A. Hagan : J.Inf. Dis., 49, 497, 1931.  
 31) 戸田・占部 : 東京医事新誌, 2984, 1539, 昭11.  
 32) H.Schlossberger u. W.Phanensteil : D.Med. Wschr., 46, 1213, 1920.  
 33) B. Lange : D.Med.Wschr., 46, 1280, 1920.  
 34) F. Kauffmann : Zbl.Bakt., 12, 142, 1892.  
 35) K.W.Preis : Kl.Wschr., 43, 841, 1926.  
 36) 戸田 : 満洲医学雑誌, 7, 67, 昭2.  
 37) 広木 : 満洲医学雑誌, 23, 769, 昭10.  
 38) 宍戸 : 結核, 23, 17, 昭23.