

会 員 演 説

1. 都市の学校職場に於ける結核症の現状と推移

松谷哲男・鶴田兼春・中村淑子・坂元佐多子・外園隆久（結核予防会一健）

29年春季第一健康相談所に於て結核集団検診を行った東京都内51集団34,369人の成績をとりまとめ、同じく21年の23,547人の成績と比較した。対象は4才より65才の学生生徒及び官庁会社工場従業員で中高校生が最も多く4割を占める。ツ反応陽性率は極めて高く、10才以上では95%をこえ、全国実態調査のそれとは各年令20%以上の差を示す。21年の我々の成績と比べても全年令にわたりより高く20才以下に著しい。自然陽性率は5~9才の40%より男女同様に上昇し25~29才で90%をこえる。これを21年と比較すると、15才以下では明かな差をもつてより高く、15~30才では接近し、或いは一時より低くなり、以後再びより高くなる。最近のツ反応自然陽性率の上昇については多くの報告があり、その原因としてBCG接種後の自然陽転の判別の困難や、感染源の増加があげられるが、この年令的の差や我々が管理して開放性患者の激減している農村にも全く同様の差が認められる点等から考えて尙今後の観察を必要とする。学年別の自然陽性率は小学校40~50%、中学校60~70%、高校70~80%となつてゐる。次にレントゲン所見上、有病率は14才以下では0.5%以下、15才より急激に上昇し、30~34才で男17%、女12%と一つの頂点を作り、男ではさらに上昇して45~50才で20%に達する。之を21年に比べると、25才以下ではより低く、25才以上では増加し、30才では2倍に及ぶ。尙反復検査により古い小病巣を発見することが多いので最近の初回検診集団5,000人について見ても21年より明かに高い。尙継続検診中、新たに所見を認められた率は0.3%で、年令的に見ると、10~15才の0.1%より年令と共に上昇して40~45才で1.4%に達する。この中年層に著しく多いことは注目を要する。又学年別に見ると高校1~2年より急上昇し、この時期の管理の重要さを示す。病型では硬化型が少年期より既に多く、浸潤型は青年期に一時硬化型を超えるが一般に少く、混合型と初期結核症は著しく低率で、それぞれ中年期以上と少年期にかたよる。又手術を施した例は20才台で約7%を占め、気胸例もほぼ同数である。病型を21年と比較すると、中年以上で浸潤型の占める割合がやや増加し、硬化型が減っていることは新所見発見率がこの層に高いことと同一の意味をもち重要である。又初期結核症と混合型の減少は、陽転直後の発病及び重症者の減少を示している。アメリカの分類による病巣の拡りは、軽症86%、中等症13%、重症1%で、軽症をさらに小葉大以下、小葉大、小

葉大以上に分けると、それぞれ24%、30%、32%となり、小葉大及びそれ以下が全体の半数を占める。WHOの分類による病勢は、1度60%、2度19%、3~4度12%、5~6度7%、7~9度2%となり、空洞の疑なしが8割を占め、空洞の疑あるものは18%で、その1/4は手術済み、空洞の明かなものは3%である。又年令の多い程病勢が進んだ例が多いことは、病巣の拡りと同様であるがより著しい。以上の所見を全国実態調査その他の報告に比べると、全般に軽症且つ慢性の状態を示す。要療養率は10~20才で有病者の30%弱で最高を示すことは前述の病勢の傾向と反するが、これは病巣の新らしきや経過観察期間の他に社会的条件が大きく関係しているもので、全体としては男21%女12%と21年に比べて半減するものの青年層では同率であることも同じ理由である。化学療法適用率は要療養率と平行してやや高いが、これは働きながら化学療法を行う患者が増加していることを示す。以上は健康管理下の都市の学校職場の結核症の現状と推移を示す例として、我々の扱っている集団の成績を見たのであるが、以上の所見から、学校の結核は幼時の感染による小硬化巣が半数以上を占め、初期結核症は減少し予防対策の効果は明かである。ただ高校2~3年以上の発病は減少してはいるがなおかなり多いのは、この時期には色々な意味での負担が急増するためであろう。又職場の結核は重症者は減少しているが有病率は増加し、特に中年層では著しく、しかも浸潤型の占める割合は硬化型の約1/3ではあるが、以前に比べるとむしろ増加の傾向を示し、新らしく病巣を発見する率も高い。以上の状態はBCGの接種や陽転者の管理や患者の早期発見等の方法によつては容易に改善されず、今後はより徹底した管理が必要で、その具体的な方法については尙十分に検討すべきものと考えらる。

2. 医療保障制度普及の必要性に関連する結核実態調査報告

東田敏夫・松本透・岡田たえ・川尻洋子・森田須美子
武田恭子・神田桂子（関西医大公衆衛生）

結核対策と社会保障制度の充実とは、互に関連した今日の重要な課題であることは論をまたない。われわれはかねてよりこの問題について検討をつづけている。結核審査会に提出された結核患者458名の病状に関する資料を検討した結果、自費患者は健康保険患者に比較して重症が多く、生活保護法の患者はいっそう多いことをみとめた。また、結核入院患者837名について、入院当時の病状を入院前健保の有無によって比較すると、健保がなかった患者は健保があった患者よりも、重症者及び多量排菌

者が多数であった(危険率1%以下)。われわれはさらに結核患者と結核死亡者の病状と療養経過を詳しく調査した。その結果、健康保険の有無が患者の療養経過と予後にいちぢるしい影響を及ぼしている事実をみとめたのでここに報告する。この調査は3種の調査よりなっている。1.「結核実態調査」で発見された結核患者のその後の動静: 昭和28年厚生省が全国的におこなった結核実態調査のうち、大阪、京都において発見された要医療患者の全員について、家庭を訪問し、検診後1年間の動静と、療養状況を調査した。まず初回検診当時の病状では、健保がない患者は健保がある患者より重症が多いことをみとめた。患者の動静調査では、確実な知見をえた者124名について述べると、その間に医療をうけたことがある者は36%にすぎない。要医療患者が医療をうけなかった理由を検討すると、検診後1年間自ら要医療患者であることを知らなかった者が全体の25%あり、療養指導を強化する必要をみとめた。それ以上に重要なことは、要医療自覚者98名中1年間に医療をうけたことがある者は、健保がある者では70%であったにたいし、健保がない者では30%にすぎず、著しい差をみとめる(危険率1%以下)。病巣の広い混合性肺結核でも、半ばは医療をうけなかった。これらの医療不足の患者、または患者を扶養する者の職業は、零細な工業、商業、従事者と半失業者、失業者、家事使用人、農民等であった。なお職業がある患者は健保がない場合は休養することが困難であり、また、健保被保険者であっても一家の生計責任ある者は休養率が低く、現行の健康保険制度にたいする反省をもとめている。2. 結核入院患者の入院前の療養状況: 結核入院患者230名について、入院前の療養状況、医療費負担種類及び病状を比較検討した。その結果を述べると、入院前健康保険があった患者はその3/4が医療をうけた経験があったのにたいし、健保がなかった患者(生保入院)は、前者より重症者が多かったにもかかわらず、その半数が医療をうけていない。またストマイの使用はまだ普及せず、健保患者でも50%が未経験であったが、健保がなかった患者はその70%が全く使用していない。病巣が広い混合性肺結核でも同様であった。入院前健保がなく、重症化(両側性混合性肺結核)、して後生活保護法で入院した患者の経験を調査すると、結核発病後も就業をつづけ、病状が悪化し、労働能力を失い、失業し、遂に収容された者(70%)と、療養生活のため貧窮化し、悪化し、収容された者(20%)が大部分であった。かくの如き結核患者にたいする医療不足の事実は、結核死亡者に関する調査によっていっそう明確にみとめられる。3. 結核死亡者の生前の動静: 大阪府守口保健所管下1市5ヵ町村在住者であって、昭和29年中に結核で死亡した者78名について、家庭訪問し、その家族と医師より、生前の生活状況と療養状況を詳細に調査した。転居等を

除き168名について確実な知見をえた。まず結核発病を自覚して後死亡までの期間は、総平均39カ月、健保被保険者50カ月、健保家族45カ月であったにたいして、健保がなかった者は34カ月であり、早く死亡することのみとめた。さらに、健保がなかった結核死亡者28名の中、16名57%は発病自覚後2年以内に死亡しており、健保患者と有意差をみとめた。また入院経験者は1名にすぎず、死亡までストマイを全く使用しなかった者5名あった。生活保護法受給者4名14%、結核予防法負担受給者7名25%にすぎない。これは両制度が健康保険がない国民層にたいする医療保障制度の役割を果しえないことをしめしている。以上の報告を通じて、われわれは、わが国において結核患者にたいする医療は未だ普及せず、とくに健康保険がない患者において著しい事実を明かにした。よって当面の結核対策として、国民の全ての階層にたいして、国の責任において結核の療養を完全に保障する医療制度と社会保障を普及することを要望する。

3. 北海道の結核の実態

小林治人・岩水俊一郎・坂村堅太・河村洋子(衛生部予防課) 金光正次・野崎俊夫(札幌医大衛生)

北海道に於て昭和28年及び29年にわたり結核の実態調査を行ったのでこの成績を全国のそれと比較しつつ報告する。標本抽出の方法は抽出率を $1/100$ とし、最終抽出単位を世帯とする層化2段階確率比例抽出法を採用した。層化の基準としては地域、人口の大きさ、産業の商工業化の程度、主産業の種類をとり、全道市町村を総計66個の階層に分類した。対象人員46,499人、67地区につき厚生省の行った実態調査の方法に準じて検診を行った。地区の分布状態はほぼ均等に全道にわたっておる。受検成績はツ反応検査; 男子21,002人, 93.4%, 女子23,059人, 96.1%, 合計44,061人, 94.8%, X線検査; 男子21,126人, 93.9%, 女子23,124人, 96.3%, 合計44,250人, 95.2%である。又受検査の人口構成を年令5才別に全道のそれの $1/100$ に較べてみると男女とも大体においてよく一致しておる。ツ反応の成績は陽性率73.6%で全国の60.1%に比してかなり高く、10~14才で83.2%に達しその後も多少増加の傾向を示し最高は45~49才の88.8%である(全国の最高は25~29才の72.0%)。硬結触知率は41.7%で全国の29.8%に比し相当高く、30~34才で59.8%に達しその後も多少増加の傾向を示し最高は40~44才の62.5%である(全国の最高は30~34才の45.4%で、以後は一途減少する)。BCG既接種率は37.7%で全国の34.2%に較べるとやや高いが30才以下の年令のものについては全国よりも低い。全結核の所見は5,380人, 13.3%に認められその中「あり」1,667人, 3.3%, 「治癒」4,213人, 9.5%(全国はそれぞれ16.0, 6.1, 9.9%)である。全結核の指導区分は要医療2.5, 要休養0.2, 要注意1.1, 合計3.8%で、全国のそれぞれ3.4, 0.4, 2.6,

6.4%に較べると可なり低い。「治癒」の%は殆んど差がなく、従って有所見の中で「治癒」の占める割合は北海道の方が高い。年令との関連においてみると乳幼児層の要指導率は1.3%で全国の1.4%と殆んど同じであるが、このことはそれ以後の各年令層において何れも北海道がかなり低いことと対比して注目せられる。尙要指導率は20才から30才の間で急激に上昇しそれ以後に於ては高い率を持続すること及び25才以上の要指導率は25才未満のその約4倍の高率であることなどは北海道と全国と同じ傾向を示してゐる。要指導の内容は要医療65.5%、要休養5.0%、要注意29.5%の割合で、全国のそれぞれ52.8%、5.7%、41.4%に比し要医療の占める割合が大きい。之を年令との関連に於てみると要医療の占める割合は北海道が各年令層に於て大きいのが特に15~19才以上に於て大きく、35~39才以後に於ては一層顯著である。肺結核の病型は初期結核型9.1%、浸潤混合型53.2%、結節硬化型35.5%、肋膜炎型0.2%、粟粒型0.1%、加療変形型1.6%となり之を全国のそれに較べると初期結核型及び浸潤混合型が多く結節硬化型が少い。然し之を更に年令別に比較してみると初期結核型も15~19才以後に於ては又差異が無く、又10~14才以前の年令層に於ては逆に浸潤混合型で北海道が低い現象を示してゐる。15~19才以後に於てはともに浸潤混合型は減少し結節硬化型は増加するのであるが全国はこの傾向が著明で35~39才で両方の曲線は交叉するが北海道に於ては遂に交叉することなく高年令層に於ても依然として結節硬化型よりも浸潤混合型の方が多い。適応医療の割合は肺結核の場合、化学療法64.1、気胸・気腹3.3、胸成11.9、その他の虚脱及び療切除6.1、その他の療法14.6%となつてゐる。これは全国の化学療法74.6、気胸・気腹6.0に較べて低く、外科的療法7.3、その他の療法12.9%に較べて高い。肺外結核に対する医療は化学療法6.4、その他の療法93.6%で之を全国のそれぞれ30%、70%に較べると化学療法の対象になるものが北海道に於ては極めて少いことが判る。以上を総括すると北海道の結核は全国のそれに較べてツ反応硬結触知率が高く、治ゆ率は同じく、要指導率は低く、要医療の占める割合が高く、化学療法の対象になるものは少い。之を年令との関連に於て見ると要指導率は乳幼児に於てのみは同じで、又その死亡率の甚だ高いことは家庭感染の多いことを想わせ、病型に於て北海道は壮年、老年に至るまで浸潤混合型が多く病勢の進行したものが多し。このことは乳幼児の致命率の高いことと相俟つて北海道の高死亡率の主な原因をなしてゐるものと考えられる。なお、この実態調査と同時に家屋・家族・社会経済等の関係につき若干調査をしたが、これについては別の機会に発表する。

4. 国立療養所入所患者の入所時病状と予後との関係 岡田藤助・久保田宏（厚生省医務局療養統計研究協議

会・国立療養所統計協同研究班)

昭和24年に、全国の国立療養所63施設の参加を得て23,713例の患者の入所時の病状調査を行った。昭和29年4月、その中から抽出した5,106例に就いて入所時病状調査時より5年経過後の患者の予後を調査して入所時の病状と予後との関係をみ、入所時の発熱の高さ、菌排出の有無、レ線所見特に空洞の有無並に病巣の散布範囲、病態、赤沈値等が予後を推定する重要な参考資料であることを確かめ、昭和29年10月第9回厚生省医務局研究発表会に於て発表した。今回は、それ等の例に就いて入所中に行つた化学療法施行の有無並にその種類、量を調べ、それが5カ年間の死亡率に如何に影響を与えたかを調査した。5,106例中化学療法を全く行わなかつた例は2,438例でそのうち683例が死亡し、化学療法施行例は1,894例であり(381例死亡)、それ以外は施行の有無が不明な例である。施行した化学療法の種類及び使用量、並に死亡例数の使用患者数に対する率をみると次の如くである。SMのみを使用したものは651例で、1人平均使用量は31.4g、死亡率は30.5%である。PASのみのものは86例で使用量は平均759.4g、死亡率は15.0%。INAHのみのものは16例、使用量19.4g、死亡者なし。TB₁のみのものは100例、使用量11.5g、死亡率22.0%。SMとPASとを使ったもの399例、使用量はSM44.6g、PAS956.0g、死亡率17.3%。SMとPASとINAHとを使ったもの173例、使用量SM56.8g、PAS1,354.1g、INAH15.3g、死亡率8.1%。SMとPASとINAH及びTB₁とを使ったもの148例、使用量はSM56.0g、PAS1,469.0g、INAH15.2g、TB₁16.5g、死亡率は8.1%等である。このように化学療法を行つたものの死亡率は20.1%であるが、化学療法を行わない例では28.0%であつて化学療法施行例の死亡率がやや低くなつてゐる。又施行例の中では1種類の薬品を使ったものよりも2種類以上使用したのものの方の死亡率が低い様である。化学療法施行の有無の死亡率に及ぼす影響をみるには同じ病状のもの間で比較してみる必要があるので、入所時の病状別に化学療法の影響を比較してみた。入所時のレ線上病巣の散布範囲別に化学療法の死亡率に及ぼす影響をみると、全肺野に亘つて病巣のあるものでは化学療法未施行例の死亡率は63.8%であり、施行例に於ては35.8%である。病巣の散布範囲が狭くなればなる程死亡率は少なくなるとともに、化学療法施行例と未施行例との差は少なくなつてゆき2肺野のものでは双方とも14%、1肺野以下のもものではやはり双方とも9%程度で同率になつてゐる。入所時にレ線上空洞を認めた例に就いてみると、化学療法未施行のもの死亡率は41.4%、施行例では24.6%である。これに反し空洞を認めない例に就いてはともに15%であり、差は認められない。入所時のラ音聴取の有無別にみると、ラ音を聴取した例については、化学療法未施行例の死亡

率50.4%、施行例では27.4%である。ラ音を聴取しなかった例に於ては、化学療法施行の有無にかかわらず10%程度である。排菌の有無別にみると、喀痰中菌陽性のものに於ては化学療法未施行例では死亡率44.4%、施行例では25.3%であり、菌陰性のものについては13.1%及び12.0%である。入所時の赤沈値についてみると、1時間値50mm以上のものでは化学療法未施行例の死亡率は51.7%、施行例では30.1%である。入所時の発熱の高さ別にみると、38°C以上の発熱例については化学療法施行例の死亡率は78.4%、施行例では43.6%である。37°C~37.9°Cのものについては、化学療法未施行例では36.1%、施行例では22.4%であり、平熱患者に於ては双方とも16%程度であり差が認められない。入所時の病状を総合して重症、中等症、軽症の三つに分類し、その各々について化学療法施行の有無の死亡率に及ぼす影響をみると、重症のものに就いては化学療法未施行例の死亡率は71.8%であるのに比し、施行例では36.8%と低くなっている。中等症に於ては双方とも20%、軽症のものでは双方とも6%程度であり差が認められない。近時化学療法や外科的療法の発達につれて結核患者の死亡率が減少してきた傾向にあるが、今回化学療法を対象として、以上の如く5,106例の国立療養所入所患者に就いて昭和24年からの5カ年間の観察によって、致命率の減少を数値的にあらわすことが出来た。化学療法による致命率の減少は、病巣の大きさや空洞の有無、排菌状態、全身状態等々関連があり、重症例に於て著明である。

5. 結核発病に関する研究 (特に家系との関係について)

重田定正・広田公一(東大教養学部体育科学生保健診療所) 中中重雄・長沢潤・茂在敏司・彦坂亮一・加藤和市・吉田清一(東大中内外科) 北本治(東大伝研附属病院)

私共は比較的結核の発病しやすい年令にある学生について、結核発病の問題を家系と結核の臨床経過の面から追求しようと考えた。それには先ず学生層に於ける胸部結核性疾患の実態を把握する必要があると考え、先ず某大学の教養学部に入学者2,065名につき胸部エックス線写真(主として間接撮影)の成績を検討した。即ち入学者中胸部に異常を認めたものは68名であり、その内訳は異常陰影42名、肋膜肺腫12名、石灰沈着3名、人工気胸2名、胸廓成形術6名、合成樹脂球充填術1名、肺紋理増強2名、その他となっている。又全入学者中任意に選んだ896名に就いて、家系調査票を用い更に詳しく結核発病の関係を追求した。先ず896名に就いてのツ反応の成績であるが、ツ反応陽性率は85.5%となっており、又エックス線写真所見による肺結核の有無は無所見者871名、有所見者25名となっている。次に現在BCGが結核発病阻止に及ぼす影響を無視するわけには行かない

ので、BCG接種の有無と発病の関係をみると、先ずBCG接種回数ではツ反応が既に陽性になったものでも、又、未だ陰性のものでも、接種回数が6回以上になるとその数が著明にへってくるのが目につく。次に、現在結核にかかっているもの、又は結核に罹患した既往歴をもつものを合せて罹患患者と呼ぶと、BCGを接種したことの無い203名中に於ける罹患患者は35名、17.4%となっており、BCGの接種をうけたもの674名中の罹患患者の数は47名で、6.9%となっており、BCGを接種していないものからの発病者の数がBCG接種をしたものからの発病者の数の2倍以上になっている。次に胸部にエックス線写真上所見のあった者に就いてであるが、BCGをしていない者の中の有所見者百分率は3.4%で、BCGをしていないものの中からの有所見者はその百分率が2.6%となっていて、両者の間に大差をみなかった。これは入学時身体検査により、胸部にエックス線写真上著変のあったものが既に除外された為によるものと考えられる。又胸部に結核性病変を認めた25名の中、BCG接種と発病迄の間隔不明な3名を除いた22名のものに就いて述べる。この場合島村氏にならって、BCG接種の免疫有効期間を2年とし、臨床的発病迄の期間を最後のBCG接種後3年以下11名と最後のBCG接種後3年以上4名、BCG非接種7名とに就いて、その病型を比較すると、少数例ではあるがこの3群の間には病型に於いて大差をみないようである。次に家系調査と発病の件であるが、先ず両親の両方か、又は何れかが結核性疾患に罹患しているか、又はした事がある場合には結核罹患の既往をもつものの頻度が16.2%であり、両親に結核のない場合は8.1%となり、明かな差が両者の間にみられる。同様な関係が兄弟姉妹の場合にもみられる。即ち兄弟姉妹に結核のある場合には結核罹患の既往歴をもつものの頻度が明かに多くなっている。次は伯叔父母の場合であるが、この場合は伯叔父母に結核のある場合の罹患患者の頻度が10.5%となり、伯叔父母に結核のない場合は10.2%となり、両者の間に全く差がない。更に同居人の場合になると同居人に結核のある場合は罹患患者の頻度が9.4%、この中1/3は同居中結核性疾患で死亡しているが、それ程頻度が多くなっていない。同居人に結核のない場合は10.5%の頻度となり、両者の間に大差がない。同居人の場合同一家族内に生活しているが、罹患患者頻度からいって伯叔父母の場合に於てくる。以上私共は年令19才~24才迄の某大学教養学部の学生について結核発病の問題を検討した。この場合もBCG接種が結核発病に大きな影響を与えており、BCGをしたことのない者からの罹患患者の頻度がBCG接種者からのその2倍以上になっている。又、少数例ではあるが、BCG接種者からの発病者の病型はBCG非接種者からの発病の病型と大差がなかった。又結核体質の問題を家系と結核の経過の面から追求するた

め家系調査を行ったが、両親兄弟姉妹に結核のある場合には罹患者の頻度が多くなっている。伯叔父母、同居人の場合は伯叔父母、同居人に結核があっても罹患者の頻度はない場合と殆んど差がなかった。このような傾向は結核を伝染病と解することによってすべて解決される問題であるのかどうかは、今後更に研究を要する所であろう。私共は今回は主として某大学教養部に於ける結核の実態調査の成績を報告したが、今後同一学生について少くとも4年間観察が可能であるので、BCG接種者からの発病者の病型、経過、結核家系からの発病者の病型、経過、治療に対する反応等に研究の歩を進めたいと思っている。

6. 乳幼児接種結核症の経過観察

黒川一男(秋田県立中央病院第二内科一科長斉藤悌三)

〔緒言〕昭和23年夏、秋田県松ヶ崎村に於けるデフテリー予防接種の際発生した乳幼児接種結核症に就て臨床的観察を継続しているが、6カ年間の観察結果を報告する。〔経過概要〕松ヶ崎村は秋田市の南西約30軒の日本海に面する寒村で昭和23年末戸数626、人口3,617であった。村内の乳幼児を対象として、デフテリー予防接種が行われたが、翌24年2月調査の際、接種者総数687名中30数名に注射局所の変化を発見し、それが結核菌に依って惹起された事が分った。その後直ちに県内各医療機関及び抗研の御協力により治療及び検診が相次いで行われた。6年を経過した今日、大多数の症例は治癒したが、一部合併症の為、尙入院を余儀なくされている。〔臨床経過〕イ) 事故者数。デフテリー予防接種は886名に3回法で行われたが、事故者は当初33名で24年12月までに3名、25年7月迄に1名発生したので総数37名となった。ロ) ツ反応。昭和23年のツ反応は極く一部にしか行われず、陽転者数は正確に把握する事が出来なかったが、事故者は全部陽性で、中等度陽性の者が多かった。その後の年次の消長に若干の波があったが、大部分は陽性に推移した。ハ) 血沈。計測せざる時を除き大多数は20mm内で高度促進は1例に過ぎなかった。ニ) 胸部レ線所見。昭和24年度の撮影は大多数が乳幼児の為判定不能の者が若干あったが、総体的には所見は極めて僅微で、若干の者に肺門陰影異常、肺内小浸潤陰影、肋膜異常陰影等が散見されたのみで、血行性撒布、顕著な肺門リンパ腺結核、滲出性肋膜炎は見られず、現在は異常者は見られない。ホ) 局所所見。臨床所見中最も顕著であった。この点につき当院外科側の資料に就てその概要を述べると次の如くである。即ち初回調査時は既に注射後6カ月以上経過して居た為病変は部位、性状共に極めて多岐に亘っていた。昭和24年の当初の病変数は注射部34、腋窩部33で最も多く、次いで上膊部(注射部以外の)12、鎖骨部11、頸部8、頤下部5の順であった。即ち注射部と腋窩部との初期変化群の形成を主軸とし更に時期的のずれの為他部位

のリンパ腺腫を合併した者もあった。注射部は膿瘍形成が多く見られ、一部には腋窩リンパ腺にも波及していた。その後局所変化は急速に減少し、現在腋窩部5、頸部2、注射部及び上膊部2のいずれも小指頭大以下の腺腫乃至硬結を示すのみで大部分は治癒した。ヘ) 各所見の関連に就て。ツ反応強度と病変との関連に就て特に記すべき点は無かった。全経過中1度でもツ反応が陰性であった3症例に就て見れば、その局所変化は他の陽性例とほぼ同様であった。次に血沈高度促進せる1例は注射部、腋窩部の初期変化群を形成し、昭和25年7月、手術により治癒し胸部所見は異常なく、特に経過が悪かったとは考えられなかった。ト) 合併症。6年間の経過中、死亡せる者が2例あった。1例は3才男児で、昭和24年8月26日(発見後6カ月)、麻疹兼消化不良症で死亡した。この例では24年7月注射部、腋窩部の変化があったが胸部所見は判定不能であった。他の1例は7才男児で貧血兼蛔虫症で昭和28年2月16日(発見後4年)死亡した。本例は胸部レ線所見は判定不能で局所は注射部及び腋窩の初期変化群を形成し、昭和25年注射部は治癒し腋窩腺腫が残ったが、26年以降異常を認めなかった。この死亡例は事情の為病理解剖は実施出来なかった。生存せる者で合併症のあったのは昭和24年7月5才女児の腰椎カリエス1例、昭和29年11月角膜炎を起した8才女児と14才女子の2例であった。眼所見を起した2例の中、前者は局所変化が極めて広汎で再発を繰返し26年頤下リンパ腺摘出に依り初めて現在異常なしと言われた。後者は胸部異常なく、局所は25年7月注射部の変化なく、腋窩リンパ腺腫を示し手術を受けたのである。〔治療及び指示〕治療は主として局所変化に対し昭和24年中に頻回に行われ、その後は急激に減少し、現在は局所治療を行っている者なく眼所見者の治療のみである。外科的には膿瘍の切開排膿、リンパ腺摘出、廓清等が主であって個々の症例に就て数回行われたものもある。SMは7例に1/20回注射を昭和24年に行い、その中6例は手術も併用された。手術前SM注射例、放置例3群の比較検討は主として外科、島田、杵沢両氏が行ったが、SM注射例、手術例は経過に好影響を及ぼしたという。指示は現在、外科的要注意3名、眼科的要注意2名を残すのみで内科的には特記すべき所見者はない。〔結論〕私が観察した接種結核症は局所所見を有する37名が大部分治療によって治癒に到達し、内科的には重要な合併症を来したものはなく、経過中2名が非結核性疾患によって死亡、2名が眼合併症を来して治療中である。

7. 薬剤による結核発病阻止の研究(第3報)

大西積守(名大予防医学)

〔緒言〕結核感染認知後の積極的発病阻止対策の一つとして、抗結核剤を使用するところみの動物実験的研究は、既に第1報、第2報として発表した。第1報は人間

の場合に擬し、ツ反陽転認知後、投薬を開始した場合について、第2報は動物実験では通常結核菌の感染の成立は即ち発病の成立を意味するとの考えのもとに感染前より投薬を開始した場合について、結核病変出現阻止効果並びに臓器組織内結核菌の薬剤耐性度について実験した。今回は結核菌感染と同時に投薬を開始した場合の成績について発表する。〔実験方法〕海猿43匹を5群に分ち、SM群・PAS群・TB₁群・INAH群・対照群とした。SM・TB₁・INAHは各0.05mg, 0.2mg, 5.0mg, PASは20.0mg, 40.0mg, 100.0mg(各per kg, per day投与量)の各三つの異った投与量とし、各3匹宛とした。対照群は7匹で、薬剤を投与せず、溶媒の生理的食塩水のみを注射した。感染結核菌はH₃₇Rv株0.01mg(Viable Unit 10⁻⁸ 希釈で58)で経気道性に感染せしめ、同時に、前記各薬剤、各薬量を24週間1日1回週6回単独に持続投与した。而して、体重、一般状態の推移及び生存期間、肉眼的剖検所見、病理組織学的所見、臓器組織内結核菌定量培養成績、血清蛋白分屑値の変動、Römer反応の推移、臓器組織内結核菌の薬剤耐性度について観察した。〔実験成績〕①体重：一般状態の推移及び生存期間：結核菌感染後の体重減少の回復は、投薬群は一般に5~6週で回復するのに対し、対照群は遅延の傾向を示した。しかしながら投薬群間では著差はみられなかった。実験終了時の体重増加率は投薬群、対照群間に著差はみられなかった。又、生存期間は同様両群間に著差はなかったが、INAH投与群はすべて実験終了の第24週まで生存し得た。一般状態は概ね体重の増減に平行していた。②肉眼的剖検所見：投薬群は一般に対照群に比し所属肺門リンパ腺の腫脹が軽度で、肺肝脾の結核、結節の形成も少なかった。殊にSMの5.0mg, TB₁の5.0mg, INAHの0.2, 5.0mg投与では顕著に結核性変化が少ないか、或いは殆んど認められなかった。対照群、PAS群、殊に前者では、脾重量の顕著に大なるものがあった。③病理組織学的所見：対照群は一般に病変の程度が、強く乾酪化を伴う定型的东西が多かった。SM群は殆んど病巣はみられず、殊に5.0mg投与では、病変は認められなかった。PAS群は比較的病変が強かったが、100mg投与ではかなり病変が少なかった。TB₁群はPAS群より病変が少なかった。INAHは一般にきわめて病巣が少なく、殊に5.0mg投与では殆んど病変はみられなかった。④臓器組織内結核菌定量培養成績：投薬群は対照群に比し一般に集落の発生がきわめて少なかったが、殊にSMの5.0mg, INAHの5.0mg投与では集落の発生は全くみられなかった。⑤血清蛋白分屑値の変動：菌感染後第13週と実験前対照を比較すると対照群はTotal Proteinに一定の傾向はないが、Albuminの減少、α-Globulinの増加を示し、β-Globulinは一定の傾向なく、γ-Globulinは顕著に増加を示した。これに対し投薬群も

程度は軽いが同様な傾向を示した。しかしながら、INAHの5.0mg投与ではAlbuminの増加、α-Globulinの減少、γ-Globulinの減少乃至類似を示した。菌感染後第24週と実験前対照を比較すると、対照群は第13週の傾向を更に強く維持していたが、SMの0.2mg, 5.0mg, INAHの0.2mg, 5.0mg投与ではAlbuminの増加、α-Globulinの減少を示しγ-Globulinは実験前と大差を示さないが、減少の傾向を示した。⑥Römer反応の推移：実験前、第3週には10倍希釈旧ツ液により、第8, 18, 24週では100倍希釈旧ツ液により検査したが、対照群に比し、投薬群にツ・アレルギーの増強、減弱等の一定の傾向はみられなかった。⑦臓器組織内結核菌の薬剤耐性度：培地の薬剤含有量10_rで集落の発生をみたのはSMの肺門リンパ腺、脾におけるもののみで、他はすべて5_r以下であった。INAHでは、すべて1_r以下であった。100_r以上で集落の発生したものは1例もなかった。〔結論〕①生存期間の点からINAH投与は全部実験終了時まで生存し得た。一般状態も又きわめて良好であった。②臓器組織内結核菌定量培養成績からみると、SM, INAHが最も優れていた。③病理組織学的所見から病巣発生抑制効果はSM, INAHが最も優れ、次いでTB₁, PASの順であった。④血清蛋白分屑値の変動からみると、結核菌の侵襲はSM, INAHの高濃度投与に少ないと思われた。⑤臓器組織内結核菌の薬剤耐性度はSM投与に最も高く、INAH, TB₁, PAS投与では高度でなかった。以上の諸成績から結核病変出現阻止効果並びに臓器組織内結核菌の薬剤耐性度からみた予防効果はINAH投与が最も優れていると考える。

〔追加〕北沢幸夫(健保療松嶺荘)

われわれは昭和25年以来実験的家兎肺結核症にPAS, INAH, TB₁等を使用し、その効果をレ線病理学的に検討してきた。かかる抗結核剤の効果は初感染の場合はレ線陰影出現前と出現後とは非常に異り、出現前では終止陰影の出現は見られず、細菌性繁殖巣にとどまるが、出現後では2カ月の場合は大葉性の滲出性病巣で殆んど対照と差を認めぬが、6カ月の場合増殖性傾向が強まっている。ツ反は陰影出現3日前に陽転している。治療に依るツ反の陰転は認められなかった。再感染では治療を再感染19日前より、或は直後より行うも早期に出現する。アレルギー性炎を阻止し得ぬが吸収を促進する。吸収がきまたらげられたと思われる際は癒痕組織が見られる場合がある。しかし再感染の場合でも再感染後は早く治療したものが乾酪化が少い。従って人体について発病防止の治療を行うとも、初感染に引続いて発病する場合と再感染による発病の場合とは、病巣の形成の有無に於いて全く異っていると考えられる。

8. 結核菌の細胞学的研究(第3報)核の消化法

湯浅明・平野正（東大教養）鈴木治（国療清瀬）曾根正陽（医務局）

結核菌には形態学的にみて核と思われる小体があり、この核様小体が Feulgen 反応陽性を示すかどうか、また DNA を持つかどうかは、この小体が真の核であるかを決定するための重要な点と思う。この想定を実証するためにわれわれは次の実験を行った。材料は *Mycobacterium 607* を用い、第1の方法は、滅菌蒸溜水にかした DNase, RNase, あるいは DNase と RNase を同時に働かせ処理し、第二の方法では、酵素は Veronal 緩衝液 (pH=7.4) にかして用いた。第1の方法は O・K 培地に 24 時間及び 48 時間培養し、手ぶり方法により得た菌液 1cc に対し酵素液 1cc の割合に入れ、一定時間処理後検鏡した。酵素液は DNase 0.1mg/cc, pH7.5 RNase は 0.5mg/cc pH7.5 のものを作った。作用時間は DNase は 24 時間培養, 48 時間培養のものも共に 36°C で 10分, 30分, 1時間, 2時間, 3時間, 4時間, RNase では同様, 24時間, 48時間培養のものも同じく 36°C で 10分, 30分, 1時間, 2時間, 3時間, 4時間, DNase, RNase 混合液も同様 24時間, 48時間培養のものについて, 36°C で 30分, 60°C で 30分ずつ作用させ、また 2時間, 3時間, 4時間のものについては各半分ずつの時間を, 36°C, 60°C にて処理した。酵素処理の停止方法は HCl を使用せず、早急に乾燥して止めた。第2の方法は、O・K 培地に 70 時間培養したものから、手ぶり法で菌液を作った。酵素液を得るため、Veronal 緩衝液 (pH=7.4) を作り、この中に DNase, RNase をそれぞれとかし、0°C に保存した。菌液 1cc を DNase で、36°C で、3, 5, 7 時間処理し、RNase 52°C で、3, 5, 7 時間処理、酵素液は菌液量と等量にした。濃度は、DNase 1mg/cc, RNase 1mg/10cc とした。培養 24 時間の菌で DNase を働かせ乾燥し、ゲンチアナ紫で染色した。10 分間酵素処理のものは菌体中に薄く染まる核と思われる粒状体を見るが、作用時間が長くなると菌体は次第に一樣に薄く染まる、4 時間処理のものでは菌体は一樣になる。DNase 処理を行わない対象では、ゲンチアナ紫によって菌体中に核様の小体が染まる。同じ材料を Feulgen 染色すると、対象では核様小体は淡紫色に染まるが、DNase 処理 10 分のは核様小体に反応色がわずかに現れ、さらに長時間処理すると次第に薄くなり、3 時間以後のものでは殆んど反応は見られない。培養 48 時間の菌も大体同じであるが、多少染色濃度のちがいが見られる。培養 24 時間で RNase を働かせた菌では小体はゲンチアナ紫にも Feulgen にも染まり、時間の変化によってもほとんど染色に変りはない。4 時間処理のものでは、多少菌体に変形した。DNase, RNase を等量にまぜて働かせると、10 分処理のものでは小体は明らかに染まり、細胞質は全く染まらないが、4 時間では小体は

極めて薄く又変形し、細胞質は多少染色した。48 時間培養のものでも同じであるが、染色は多少薄かった。これらの実験結果から、小体には DNA を含み、DNase で消化されること、細胞質には RNA があり、RNase 処理によって多少消化され、菌体の変形が起きると想像された。染色をほどこさない資料を、電子顕微鏡で検鏡すると、前述の実験結果とはほぼ平行の結果が認められた。RNase で処理した菌体が、染色一樣となり、電子顕微鏡で黒く見えるのは DNA がとけ出して一樣に菌体に拡がったためと思われる。第2の方法では、Feulgen 染色によって、対象では小体はわずかに染まり、DNase 3 時間処理のものでは薄く染まり、5 時間, 7 時間処理のものでは全く染まらない。RNase 3 時間, 5 時間, 7 時間処理のものでは菌体は多少ふくらみ、小体は薄く染まる。DNase と RNase 混合 (1:1) で 36°C 3 時間, 52°C 3 時間おいたものでは、菌体は多少ふくらみ、小体はきわめて薄く染まる。電子顕微鏡により観察しても同じような結果を得た。本実験は DNase を働かせゲンチアナ紫で染め、あるいは Feulgen 染色で第2報において核と思われる小体が DNA を含むかどうか、DNase によって消化される部分を認めようとした。観察結果が示すように、核と思われる小体は、DNase により、ゲンチアナ紫や Feulgen 染色では薄く染まり長く作用させると染色しなくなる。このことは核様小体に DNA のあることを証明し、核に相当するものといえる。しかし核様体の構造については、なお研究の余地があることは認めている。

〔追加〕 高橋義夫 (北大結研)

写真がないのでよく分らないが、演者は結核菌のいわゆる Much のグラスラ (*Fontes* で若い菌体の両端によくそまって来る), *Ernst-Babes Körperchen*, *Volutin Körperchen* などと従来よばれているものを核と判定しているように思われる。この小体は電子顕微鏡的には non-transparent で黒くうつて来るらしいが、この小体は菌が古くなると型態が不明瞭になり、ついに菌体内に見えなくなる。従って従来の核の概念とは少々異なるように思う。われわれのところでもこの小体を Feulgen でそめようとしているが仲間うまくいかない。又 Werner 等はこれは核ではなくて、核は別にあるともいっている。以上の点を今後注意して研究すべきだと思う。

〔追加〕 山中太木 (大阪医大微生物)

希望であるが、この種の報告には写真を示して講じないと理解が出来ないので実物写真を掲示されたい。

〔質問〕 庄司宏 (阪大微研竹尾結研)

唯今の実験は生菌に酵素を作用させたのか。死菌の混在を考えるが、総ての視野が同一所見であったか。

〔回答〕

Feulgen 染色で証明出来るが、われわれは培養初期

の菌を使用しているのがこれか Much の顆粒であるか積極的証明方法もないのでわからないが、今後この点についても研究を進めたい。

⑧生菌で実験したつもりであるが、死菌の介入もきけられないと思う。

9. 結核菌体成分の研究 (第5報) 結核多糖体の病理組織学的研究

久保久俊・森清治・名取静子 (久保研究所)

〔実験方法〕人型結核菌より抽出せる多糖体 (金大結核研柿下教授より恵与)。実験動物は家兎。結核生菌感染には牛型を用いた。①結核多糖体の抗原性に関する実験：家兎の皮下に結核多糖体を 10^6mg ずつ2回前処置しておき、それより2日の後に生感を行って、肺結核症の経過を病理組織学的に追究した。実験群の肺結核症と対照群のそれとの間に、病理組織学的に明確な相違が認められなかった。かくて本実験に用いた結核多糖体は hapten であろう。②結核多糖体の実験的肺結核症に及ぼす影響についての実験：(イ)第1次実験。動物に生菌感染を行い、それより4日後から結核多糖体を第1群には 10^3mg ずつ、第2群には 10^6mg ずつ静脈内に隔日毎に反復注射した。第3群は後処置をしない対照。 10^3mg の多糖体で後処置した第1群では、肺結核症の結節が3群のうちで最も大きく、且つ多発していた。組織学的には周局炎が強くて結節が相互に癒合して、大きい病巣を作っていた。その割に乾酪化が軽度であった。次に 10^6mg で後処置した第2群では、肺の結節は大きく且つ多発していた。組織学的には乾酪化が中等度に出現していた。結節を構成する細胞は主として類上皮細胞、巨細胞の出現せる例が多く、好銀線維の増殖は中等度であったが、その肥厚乃至は膠原化が他群に比して顕著であった。対照群。生感に用いた結核菌の毒力が強かったので、動物の体重プロキロ 10^{-2}mg の感染であったのに、生感から4週前後で大部分の動物が高度の肺結核症で死亡した。組織学的には類上皮細胞結節が多発していた。7例のうち3例では乾酪化がやや強く、病巣の大きい割に乾酪化の軽度であった3例では結節を構成する類上皮細胞の分化がすすんでいて、繊細な好銀線維が瀰漫性に増殖していた。(ロ)第2次実験。動物を4群にわけ、まず生菌感染を行って4日後から第1群には多糖体を 10^6mg ずつ、第2群には 10^3mg ずつ、第3群には 10^0mg ずつ静脈内に反復注射した。第4群は後処置のない対照。第1群では7例のうち4例に高度の肺結核症が出現し、他の1例には軟化空洞の発生があった。最初に死亡した1例を除いた6例には大きい結節が出来ていて、周局炎も多少の程度に発現していた。7例のうち5例には乾酪化が中等度であった。結節を構成する細胞は主として類上皮細胞で、紡錘形のもの比較的に多い例があり、巨細胞も全例を通じ多少の程度に出現していた。好銀線維の増殖

も全例を通じかなり著しく、ことに4例では顕著であった。第2群。7例のうち4例では肺結核症が高度で、肺の割面が肉眼的に肺炎状を呈していた。肉眼的に肺炎状を呈していた4例では、組織学的に周局炎が強くて、そのため結節が相互に癒合して大きい病巣となっていた。このうち1例だけには乾酪化が高度であった。これに反て他の3例では乾酪化が軽度で、好銀線維の増殖が強かった。残りの3例では乾酪化が中等度であった。このうち2例には軟化空洞の発生が証明された。これ等の3例にも好銀線維の増殖が強かった。第3群。7例のうち4例は肺結核症が高度で、その割面が肉眼的に肺炎状を呈していた。この4例のうち2例には乾酪化が甚だ高度であった。残りの3例のうち1例では乾酪化が甚だしく高度であった。本群でも肺の結節は他群と同じく大きかったが、乾酪化は他群に比して高度であった。これと並行して増殖性反応は他群に比して軽度であった。対照群。7例のうち1例において、肺の肉眼的所見が肺炎状を呈していた。他の例では、超粟大から米大乃至は小豆大までの結節が中等度乃至は高度に発生していた。組織学的には7例のうち3例に乾酪化が高度で、他では中等度乃至軽度であった。増殖性反応は一般に中等度であった。要約。第1次並に第2次の実験成績をみるに、実験群と対照群との間に肺結核症の肉眼的にも組織学的にも相違が証明された。かくて結核多糖体を結核動物に反復すると生体内に抗原抗体反応が出現して、その結果、実験群と対照群との肺結核症に相違が起きたものと考えられる。実験群の相互間の肺結核症に、量的並に質的の相違が証明された。これは各群に於て反復される抗原抗体反応の量的な相違に起因するものと思料したい。

10. 抗菌性物質の作用下に於ける結核菌の形態的变化について

多賀一郎・大山馨・浦上則一 (富山県立中央病院)

私達は結核菌の形態に及ぼす抗菌性物質の影響を検討する目的で、電子顕微鏡を用いて観察し、先の総会にもその成績を報告した。但し従来までは主として培養した菌苔を磨砕して単独菌を作り、これに抗菌性物質を試験管内で作用せしめて標本を作った。従って、①使用した結核菌は発育の状態が一樣でないということ。②次に前化もって機械的作用を受けているので、結核菌の形態的変に考慮が払われなければならないこと。③更にいわゆる Resting zell の状態で作用をさせたものであるということ等のために、抗菌性物質の結核菌に対する作用を正確に判定することが困難であったと考えられた。そこで今日はこれらの点を考慮して、個々に分離した結核菌を膜面に培養して、同じような発育状態として、これに抗菌性物質も加えて更に4~5日間培養を続け、その形態的变化を電子顕微鏡にて観察した。使用した薬物は SM INAH, PAS である。濃度はそれぞれ5万倍と50万倍

とを用い、結核菌は人型株である。① SM に於てはまず濃度の高い方が結核菌に対して強い変化を与えることが認められる。そして所謂顆粒に相当する菌実質は電子の透過性が不平等となり、恰も一部に萎縮しているような菌や、又影が薄くなって菌実質が僅かに残っているもの、バラバラに分裂しているようなもの等がみられた。5万倍の高濃度のもものでは、この菌実質の崩壊が著明にして殆んど菌膜のみとなっているものもみられた。菌体それ自体としてはいくらか膨化しているような傾向がみられた。そして菌膜はさほど著しくないように思われた。② INAH を作用させた場合には、SM よりもより強い作用を及ぼすもののように、菌実質に於ては SM と同じく萎縮障害されて、電子透過性はよくなって影がうすくなっているが、又他方には菌膜も影響をうけ、菌実質がみられず菌膜のみが萎縮したようなものもみられた。③ PAS を作用させた場合は、SM と類似した所見がみられたが、その変化は SM よりも弱いようであった。即ち高濃度では菌実質の障害は著明にみられたが、50万倍の濃度では軽度であり、そして菌膜に於ける変化は SM と同じく余り認められなかった。菌の長さについては延長しているように思われたが、培養して発育中のためにその比較は難しいと考えられる。結論として、①培養した状態で結核菌に抗菌性物質を作用させた場合は、所謂 Resting cell の状態で抗菌性物質を作用させた場合よりも結核菌は強い変化を受ける。② SM と PAS は結核菌の菌膜よりも所謂顆粒の菌実質に強い変化を与えるもののようにみられ、その作用は SM の方が PAS に比して強く作用する。③ INAH に於ては前二者よりも菌膜の変化がより著明のようで、SM、PAS と作用機転の相違があるものと考えられる。

〔質問〕 高橋義夫 (北大結研)

染色実験は並行してやっていないか。

〔質問〕 君野徹三 (国療大府荘)

Resting cell の方が、培養菌に比して薬剤の影響を受け難いとの事だが、その理由は何の様に考えておられるか。Resting cell に何か特別の条件があるのか。

〔質問〕 川田十三夫 (鳥取大細菌)

① SM、INAH の菌に対する作用時間はどれくらいか。② 菌体が一部融解するような像に対しては SM それ自体の作用の他に、菌の死滅による二次的な作用として自己溶菌も考えられるが、この点はどうか。③ Autolysis に対してはトルオールを加えてしらべられたそうだが、その際の像は如何。

〔回答〕

① やってない。

② 不明。

③ 1時間より5日迄である。菌の死滅による自己溶菌に対してはコントロールを置いて常に比較した。又

SM50万倍の濃度をも作用させたが、これは SM の静菌濃度という点を考慮に入れてあり、そして使用した菌そのものが培養後5日迄の発育途上の菌であるということから、自己溶菌による像との混同は余りないと思われる。但しこの点については尙充分検討してみる。トルオールとお聞きになったのはコントロールとお答えしたのである。

〔追加〕 山中太木 (大阪医大微生)

菌体細部構造の観察には更に Shadowing を施して見られるともっと明瞭になる。然らざれば詳しい点は全く不明である。(今示された写真では)。

11. 抗結核剤下に於ける結核菌の形態学的研究

馬場真 (国療新潟)

SM, PAS, INAH 及び TB₁ の結核菌形態に与える変化を追求すると共に、一方薬剤を加えない培地に結核菌を発育せしめ、孵卵器中に1カ年以上放置、1カ月毎に形態を観察、所謂退化変性過程の形態変化をも追求した所、薬剤の成績と比較して興味ある成績を得た。試験管内実験には結核菌 H₃₇Rv、培地は岡・片倉培地及び Proskauer-Beck 変法培地を使用した。観察点としては Ziehl-Neelsen 染色法により、菌長及び染色性や形態所見を、又 Fontés の顆粒染色法により顆粒数とその配列状態等を観察、合せて抗煮沸試験をも試みた。以上の成績から結核菌は抗結核剤の有無にかかわらずまず数珠状形態をとると共に染色性に変化を来し、やがて多形態の出現となり、就中黒赤色に染色される菌が多くなる事、顆粒染色では多顆粒形態の増加後僅少顆粒形態の増加を来し、且つ抗酸性の減弱等の過程をとる点はかなり興味ある所である。しかして諸形態の分布状態から各薬剤の影響を見るに、薬剤を使用しない所謂退化変性過程においては時々伸長菌の増加時期も見られるが漸次短縮傾向をとるが、SM は短縮形態より伸長形態が勝り、且つ数珠状形態及び多顆粒形態が著明である。PAS は短縮形態が稍勝るが、試験管内に於ては高濃度下では伸長形態が著明であった。しかしてバラ紅色形態が多い。INAH 及び TB₁ は短縮形態が勝っている。又喀痰内では顆粒の少ない束状形態出現がかなり著明であった。以上の結果から薬剤による菌形態を云々する場合には菌長、顆粒数を計測するだけでなく、諸形態菌の分布変動に注意しなければならないものと思う。

12. 結核菌に見出された一未知核酸類縁物質に関する知見補遺

田中伸一・杉林礼三・山名弘哉・黒沢武生・山本正彦・伊藤和彦・広瀬久雄・山本達郎 (名大第一内科)

SM 耐性問題を研究中、一つの未詳 RNA 類縁物質の好在を認め、興味ある事には7分水解糖を可成り多量持つ事を報じた。今回はこの物質の精製法を吟味した。トリクロール酢酸抽出物より Barium acetate で p_H

4~5 の酸性で不溶性 Ba 塩として捕捉、次いで SO_4^{--} 共存の下に Ba をはずし、Hg 塩として沈澱させる。これを H_2S で HgS とし脱水銀して、アルコール沈澱を行い精製出来る事を認めた。かくして精製したものもやはり可成りの7分水解燐をもち、Bial の Orcin HCl 反応陽性、塩基を HCl で加水分解後 Dowex 50 を使用するイオン交換樹脂クロマトグラフィーで検討してみると、RNA の構成塩基たるアデニン、グアニン、チトシン、ウラシルをもつ事を見とめた。この物質はトリクロール酢酸 (TCA) や過塩素酸 (PCA) で抽出可能な点より幾分低重合の RNA 類縁物質と思われる。然し乍ら上述の Ba 塩による調製法は ATP の様な Mononucleotide と截然と分割する事の至難な事と、一旦 Ba 塩にすると塩酸 \times 性の過激な条件でなければ BaSO_4 として Ba をはずし得ない事も判明した。恐らく高分子 RNA と Mononucleotide との中間に、かかる中等度の重合度の ARN 類縁物質は連続的に存在するものであろう。従って私共はイオン交換樹脂クロマトグラフィーにより精製する方法を吟味した。強塩基性の Dowex I 及び弱塩基性のアンバーライト 4B が可能性がある。酸性樹脂は不適の様に見える。先ず Dowex I や 4B で検討の結果、酸溶性で、従来の Nucleotide よりはるかにイオン強度の大なる所で溶離してくる物のある事を見とめた。この物は上述の如くアデニン、グアニン、チトシン、ウラシルをもつ事、Ribose、7分水解燐をもつ事はやはり同様である。今後更に続いてこの物の性質を明かにすると共に生理作用、例えば RNA 及び Protein の生合成、崩解における立場、この7分水解燐の意義は将来追究すべきでなからうか。

〔質問〕 山中太木 (大阪医大微生物)

初めの方の抽出操作を教示願う。

〔回答〕 5~10% TCA で約 15 分遠心管内にてガラス棒にてねる。この遠心上清を濾過する。この操作を 3~4 回繰返す。かかる物質の抽出される難易は、菌の Age、菌の培養条件で多少相違するものであろう。

〔質問〕 堀三津夫 (阪大竹尾結研)

演者の精製された物質が SM 耐性菌にのみ存在するかどうか、SM 感受性菌にみられないかどうか。ということについておきかせ願いたい。

〔回答〕 抽出法の吟味によって、SM 感受性菌にも存在する事が分った。SM 耐性菌に存在するそれとの異同は目下の所全然分らないが、Ionexchange resin chromatograph の精細な検討により定性・定量的に検討してみた。

〔質問〕 庄司宏 (阪大微研・竹尾結研)

この度、分離された物質にも Peptide がついているのか。アルカリ側 pH の電気泳動では物質が分解して斑点が割れるという経験はないか。

〔回答〕 Ba 塩とし、次に Hg 塩にしたものは、Peptide がついている。Ionexchange resin chromatograph で Polypeptide は早期に溶離されるので Nucleotide と分割する事が出来る。一般の Nucleoprotein でも分割出来る様である。この様な Nucleotide は菌体内でいわば当該 Active protein と bound して重要な働きを演ずるのであろうが、それがこの Ba 塩 \rightarrow Hg 塩にした時、とれてくる Polypeptide そのものであるか否かは全く不明である。

13. 結核菌に於ける菌体内 Glutamin 酸の消長について

伊藤文雄・青木隆一・菅野忠彰 (阪大第三内科)

結核菌に於ける蛋白合成機転の一端を覗見すべく、Gale 等が Streptococcus その他で行った方法を用いて菌体内 Free 及び Combined グルタミン酸の消長並びにこれ等に及ぼす化学療法剤の影響を検討した。〔実験方法〕 グルタミン酸の定量は、大腸菌のグルタミン酸脱炭酸酵素を用い、Warburg 検圧計に依り Manometrically に定量し、乾燥菌量 100mg に換算した μM 数で表した。菌は Sauton 培地に10日前後培養した BCG 竹尾株を用い、洗菌後 pH4.4 にadjust した生理的食塩水中にて 37.5°C 1~1.5時間 shaking して菌体内 free グルタミン酸を減少させた菌体を用いた。(I) free glutamin 酸の蓄積を検討すべく、最終濃度を夫々 glutamin 酸は 20 $\mu\text{M}/\text{ml}$ 、葡萄糖 1% になる様に pH7.2 の phosphate buffer 中に浮遊させ 37.5°C 1.5~2時間 incubate した後、3 回洗菌し30分間 boiling water 中で煮沸して遊出する free glutamin 酸を定量した。(II) combined glutamin 酸の消長に就いては、前述の BCG を最終濃度夫々 glutamin 酸 15 $\mu\text{M}/\text{ml}$ 、glucose 1% とし、他のアミノ酸 1 及び dl 型 19 種類は最終濃度 1~2 $\mu\text{M}/\text{ml}$ になる様に pH7.2 の phosphate buffer 中に浮遊させ 37.5°C 2時間 incubate した後、前述の如き方法で free グルタミン酸を定量し、更に Combined glutamin 酸は最終 5 規定塩酸中で10時間加水分解後中和し pH4.4 に adjust して一定量に希釈し、一部を採り manometrically に定量、free glutamin 酸との差を Combined glutamin 酸とした。〔実験成績〕 (I) free glutamin 酸の消長: ① boiling water 中で30分間煮沸する事により菌体内 free glutamin 酸は完全に遊出する。② Incubation time は60分間では著明に free glutamin 酸は蓄積せず、2時間で著しく増加す。③ glucose は、好氣的条件では著明な影響を与えず。比較的嫌氣的条件では glucose の存在する方が著明な free glutamin 酸の増加を示す。④ 対照に於ける free glutamin 酸の増加を 100% とし、各種阻害剤抗生物質及び抗結核剤を最終濃度 $\frac{1}{100} \sim \frac{1}{1000} \text{M}$ 及び 1~100 γ/ml とした時の阻害度を検討した。 NaN_3 ($\frac{\text{M}}{100}$) Soxy-qui-

nolline ($\frac{M}{1000}$), Crystalviolet(100 γ /cc)では著明な阻害を呈し, 2,4,-Dinitrophenol, KCN, Arsenite($\frac{M}{1000}$)では全く阻害されない。Tetracycline 系抗菌物質 Aureomycin Teramycin Achromycin は全く阻害を示さない。Penicillin は全く影響なく, Chloramphenicol 及び Trichomycin(100~10 γ /cc)では著明な阻害を示した。抗結核剤中 Dihydrostreptomycin (100~1 γ /cc) Viomycin(100~10 γ /cc)では著しい阻害を示すが, INA H, PAS, では全く影響なし。⑤ glucose を省いた System で各種物質の影響を同様の方法で検討したが, 殆んど glucose の存在する場合と同様の成績を得た。尙 Warburg 検圧法で Endorespiration 及び glycolysis へ及ぼす影響を検したが特記すべきものを認めなかった。(II) Combined glutamin 酸の消長: ①最終5 N 塩酸中での加水分解は, 10時間と18時間では著明な差なく, free(10 μ M 前後)に対し, 約4~5倍(40 μ M)前後の Combined グルタミン酸を含有する。② glutamin 酸だけの時は free は増加するが, Combined グルタミン酸は増加しない。③皮下用 Polytamin を用いて, incubate した場合, 1時間では free は増すが Combined は増加せず, 2時間3時間では Combined グルタミン酸は著明に増す。④19種のアミノ酸を Gale に依って ABCD の4群に分けて incubate した際, A 群及び全群に於いて free 減少と Combined glutamin 酸の増加を認めるも, A 群を更に2分すると最早や Combined glutamin 酸は増加を示さない。⑤ glutamin 酸以外のアミノ酸 Complex を2倍量の(4 μ M/ml)にするも著しい増加を示さず, グルタミン酸との間に適当な相対的濃度を保つ必要あり。⑥葡萄糖が無い場合には, free は増加するも Combined glutamin 酸は殆んど増加しない。⑦好気的條件と比較的嫌気的條件との間には著明な差異を認めない。〔総括〕以上 BCG に於ける菌体内 free 及び Combined グルタミン酸の消長に及ぼす種々の基礎的條件を検討した。更に free glutamin 酸の増加に及ぼす各種化学療法剤等の影響に就き以上の如き諸成績を得た。

〔質問〕 庄司宏 (阪大微研竹尾結研)

対照を取る場合に Incubate する前の菌体中グルタミン酸を測っておく必要があると思う。菌を水冷する時に菌体中遊離グルタミン酸が外液に漏出する経験をもっている。生菌を用いた場合 10 μ lCO₂ を100%に読みかえることは危険ではないか。

〔回答〕 対照は水冷した場合と、温室に放置した場合とで行っているが、それ以上の検討はしていない。誤差の範囲は遊離 Glutamin 酸の場合は $\pm 0.8\mu$ M/乾燥菌体 100mg 以内であると考えている。

〔追加〕 勝沼信彦 (名大生化学)

各種アミノ酸を添加した時のみ多く結合型グルタミン

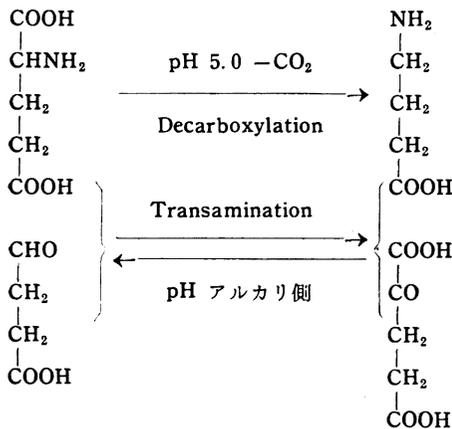
酸が増すといわれる所から、結合型として蛋白系のもののみをさしている様に思われるが、私は鳥型結核菌で葉酸生成の第一段としてグルタミン酸と PABA が非常によく酵素的に結合されることを報じている。これから考えても結合型グルタミン酸中には葉酸の端に多くのグルタミン酸が結合している V. Be (葉酸ポリグルタミン酸 コンジュゲイト) 等によるものも多いと思われる。PABA を添加した時の結合型グルタミン酸増加も実験していただきたい。

14. 結核菌の Amino 酸代謝に関する研究・ γ -Amino 酪酸の代謝について

庄司宏・山上朗・森竜男 (阪大微研・竹尾結研II科)

先に鳥型結核菌竹尾株が Glutamine 酸(GA)を脱炭酸して γ -Amino 酪酸(γ -ABA)を生ずることを報告した。この度は γ -ABA が鳥型竹尾株によりどのような代謝を受けるかにつき検討を行った。Souton の培地の Asparagine の代りに γ -ABA を加えて鳥型竹尾株を培養すると、よく増殖し又、Asparagine 酸と γ -ABA とを同時に加えた Souton 変法培地の場合でも、Asparagine 酸の減少とともに γ -ABA の減少が濾紙 chromatogram により見られた。このように γ -ABA が菌により何等かの変化を受けて行くのは明らかである。第一の実験として γ -ABA の脱 Amino につき試験した。鳥型竹尾株の生菌及び Aceton 乾燥菌を用い、種々の pH に於て好氣的及び嫌氣的な γ -ABA の脱 Amino を Conway 氏法、赤松氏法、Indophenol 法で検したが、NH₃ の放出を認める事が出来ず、残液の γ -ABA の減少も濾紙 chromatogram では肉眼的に認める事が出来なかった。1953年 Bessmam 等が mouse の脳による γ -ABA と α -Keto glutar 酸 (α -KGA) 及び β -alanine と α -KGA との Transamination を報告している。又 Roberts 等は Aspergillus fungimatus 及び大腸菌でもこれを行うことを発表している。種々の窒素化合物を唯一窒素源として含む合成培地に増殖した菌の菌体内遊離 Amino 酸として GA は常に大量に見出されるものであるが、この GA 形成の途として γ -ABA 及び β -alanine から α -KGA への Transamination を試験した。〔実験条件〕グリセリンブイヨン2日培養の鳥型竹尾株の洗滌菌 30~40mg/ml (乾燥菌量) $\frac{M}{15}$ 磷酸緩衝液 (pH 7.5), 基質 20 μ mol/ml を混じ嫌氣的に2時間振盪後、その反応液の上清につき定性定量を行った。煮沸した反応液及び煮沸しない反応液を濾紙 chromatogram で見るに、菌のみ、菌と α -KGA, 菌と γ -ABA との場合に比して、菌と α -KGA と γ -ABA を混じたものは著明な GA の増加が見られた。 α -KGA と γ -ABA 及び α -KGA と β -alanine との Transamination は pH の Alkali 性側で活性が強い。等モルの γ -ABA 及び Asparagine 酸を用い α -

KGA への Transamination を検するに γ -ABA の場合の方が GA 形成量は多かった。 γ -ABA の Amino 基の移動を尙正確に見るために次の方法で Transaminase を抽出した。鳥型結核菌湿菌量 50gr を硝子粉 25 gr にて嚙砕し 0.01Mol 磷酸緩衝液 pH7.8, 50ml を加え 6 時間攪拌し, 同上緩衝液 350ml を加え氷室に一夜放置後遠沈し上清を硝子粉を敷いたフィルターで濾過し, 濾液を 1M 醋酸で pH4.7 にし, 長さ約 5 厘のアルミナの層を一夜氷室放置にて濾過する。アルミナ層を pH7.8, $\frac{M}{15}$ 磷酸緩衝液で溶出し, その上清を粗酵素 I とし, 濾液の方を 1M 醋酸で pH4.2 とし遠心沈澱を行い, その沈澱を pH7.8 $\frac{M}{15}$ 磷酸緩衝液にかしこれを粗酵素液 II とする。この粗酵素液 I 及び II を用い, α -KGA の Amination を見るに, 粗酵素 I ではなお, α -KGA への無機アンモニアの Amination により僅かながら GA が生成されるが, 粗酵素 II では, α -KGA の Amination は起らない。粗酵素 II を用い γ -Amino 酪酸を基質としワールブルグ検圧計で見るに, γ -ABA の酸化は認められず, 又反応液を除蛋白し Nesslerization により NH_3 の比色定量を行ったが, 脱アミノも認められなかった。かように Transaminase の抽出は可能であるが, なお活性が低く, 更に抽出精製を行っている。 γ -ABA の Amino 基の α -KGA への転移により Succinic Semi Aldehyde が生成する事は反応液に 2,4 dinitrophenyl hydrazin を加え生ずる Hydrazone の濾紙 chromatogram により確められた。



斯するに竹尾鳥型菌は GA を脱炭酸して γ -ABA を生成し, γ -ABA の Amino 基を α -KGA に転移して GA を形成すると同時に γ -ABA は Succinic Semi Aldehyde を形成する。Schemin, Wittenberg 等は Protoporphyrin の形成に Succinic Semi Aldehyde が中間体となっているかも知れないと述べ, 又 Racker 等は Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase により Tricarboxylic Acid Cycle に入り, 炭素鎖の完全な利用に役立っているのではないかと述べている。

鳥型結核菌竹尾株のこのような循環の内に Succinic Semi Aldehyde が出来るわけであるが, このものがどうなるかはまだ不明である。

15. 結核菌による 1-チロジンの分解(続報) 鳥型結核菌によるチラミンより新物質 N-アセチル-チラミンの形成

白井裕 (大阪阿武山赤十字病院)

先に結核菌を 1-チロジン含有する合成培地に培養しチロジン分解物としてチロゾール, パラオキシフェニール醋酸を証明し, 更に炭素源としてグリセリンを用いた培地ではチラミンからもチロジンからとほぼ等量のチロゾールを証明した。然るにグリセリンの代りにグルコースを用いた時にはチラミンからチロゾールは得られず, パラオキシフェニール醋酸と不明なミロン比反応陽性の結晶を得た。この物質を純結晶として分析の結果 N-アセチルチラミンと推定したので他方チラミンより化学的に合成したものと比較して同定することが出来た。

〔実験〕 (I) 培養実験: 用いた菌株は鳥型結核菌竹尾株である。培地はソートン合成培地のグリセリンの代りに 3% にブドウ糖を加え塩酸チラミンを 0.1% に含有する培地である。この菌株をこの培地 2l に 20 日間培養した。培養濾液の処理は前報 (結核: 29 卷 8 号) の如くであり, N-アセチルチラミンは同報のチロゾール分割に抽出されて来る。この分割のエーテルを去り, 除湿器中で充分乾燥さす。これに温ベンゾールを加えて溶解し, 加温濾過すると冷却につれ針状の結晶が析出する。これを繰り返して精製すると融点 130°C となった。これはミロン氏反応陽性であって元素分析値は H (7.18%), C (67.03%), N (7.67%) でモノアセチルチラミンと推定された。この培養濾液中には本物質と共にパラオキシフェニール醋酸も証明された。以上の実験は 5 回繰り返され, 何れも同じ成績を得, 対照の結核菌を植えずに他の操作を同じようにしたものではこれ等の物質は見られなかった。(II) 化学的合成: 原理: 先ず塩酸チラミンを遊離のチラミンとしこれを無水醋酸と醋酸ソーダでチアセチルチラミンを作り, これを 2N 苛性ソーダで加水分解することによって出来る。方法: a) チアセチルチラミンの合成。これはすでに B. Cloetta Wünsche によって報告されている。融点は 103°C で元素分析値は, C (64.71%), H (6.52%), N (6.36%) で理論値とよく一致する。ミロン反応は陽性である。これはミロン試薬中の酸によって 0 位のアセチル基が加水分解されて離れパラオキシフェニール基となってミロン反応陽性となると考える。b) N-アセチルチラミンの作成。チアセチルチロジンから N-アセチルチロジンの作成は R. R. Sealock によって報告されているのでこれにならった。すなわち 0.25g のチアセチルチラミンを 2N 苛性ソーダ 15cc に溶かし室温で 30 分間放置し (これにより 0 位

のアセチル基が離れる), 6N 硫酸で中和し, 僅かにリトマス酸性としてエーテル抽出を行う (これによりチラミンは除去出来る)。このエーテル抽出液のエーテルを駆逐し, 乾燥後ベンツォールで加温溶解し, 加温濾過すると冷却と共に針状結晶が析出した (ヂ-アセチルチラミンはベンツォール中に溶存している)。この物質の融点は 130°C であって先に培養実験から得た物質と一致し混融するも融点の低下を見なかった。且つミロン反応陽性でその元素分析値は C(67.10%), H(7.03%), N(7.82%) で理論値と一致した。(III) 理化学的性質と誘導体形成: N-アセチルチラミンはアルコール, 温水中に容易に溶解, エーテルにもかなり溶けるが, 冷ベンツォールに不溶である。ミロン反応陽性である。濃厚苛性ソーダ (20%) では室温で加水分解され, Schotten-Baumann のベンツォール化でチラミン-ヂ-ベンツォートが出来る。融点 170°C で元素分析値でも理論値と一致する。このミロン反応は陰性である。苛性ソーダを用いずに弱アルカリ (10%炭酸ソーダ) で同じくベンツォール化を行うと, 融点 148°C の結晶が出来た。元素分析値は C (72.42%), H (5.90%), N (5.14%) でモノ-アセチル・モノベンツォールチラミンと一致し, ミロン反応陰性である。ベンツォール基が 0 位に結合していることは前述のチラミン-ヂ-ベンツォートがミロン反応陰性であることから考えられる。すなわち OH 基に結合したベンツォール基はアセチル基のように簡単に離れないからミロン反応は陽性とならないのであろう。其所でこのベンツォール化合物は 0-ベンツォール-Nアセチルチラミンとなり, もとの物質は N-アセチルチラミンと考えて良い。〔結論〕結核菌をチラミンを含む合成培地に培養し, その培養濾液中に分解産物としてパラ-オキシフェニール醋酸と不明のミロン反応陽性の結晶を得た。この結晶は元素分析, 誘導体作成等により, また一方合成して作ったものと一致したのでその合成過程より Nアセチルチラミンと決定した。

16. 結核菌の糖分解型式について

小田稔 (長大細菌・国療佐賀)

結核菌の糖代謝を観察する方法には従来指示薬に依る酸の検出, Warburg に依る酸素吸収量測定等がある。余はペーパークロマトグラフを応用し解糖型式を求めた。菌株は人型 (青山) 牛型 (一号) 鳥型 (竹尾) 非病原性抗酸菌 (チモテー) を, 糖はキシロース, アラビノース, グルコース, ガラクトース, ラクトース, マルトース, サツカロース, マンニット, グリセリンを使用した。〔実験 I〕ソートン培地上の追求 0.5% 各種糖含有ソートン培地に 1 白金耳の菌を浮游培養, 第 2, 第 5, 第 10, 第 15, 第 20 日目毎に培地の 1 部を 12 時間上昇展開した。展開剤は n-ブタノール, ピリジン, 水の混合液とし発色剤はアムモニア硝酸銀及びレゾルチン塩酸を使用

した。チモテー菌, 竹尾菌は単糖類, マンニットを 5~10 日間に分解した。複糖類は分解しない。牛型菌はグルコースを人型菌はグルコース, アラビノースを分解した。〔実験 II〕Schoetensack 法: ソートン培地に増殖した新鮮な菌苔 (チモテー菌, 竹尾菌は培養第 5 日目, 人及び牛型菌は 14 日目) を無菌的に採集, 生理食塩水にて 3 回洗滌, 脱湿秤量し 0.5% 各種糖含有生理食塩水にてそれぞれ 50mg/cc, 100mg/cc の菌液調製, 37°C の孵卵器に収め 1 日数回振盪, 14 日間毎日その 1 部を spot した。チモテー菌, 竹尾菌はアラビノース, ガラクトース, キシロース, グルコース, マンニット, グリセリンを分解し複糖類を分解しない。牛及び人型菌はグルコース, マンニット, グリセリンを分解しその他は分解しない。人型菌は実験 I に於てアラビノースを分解したが実験 II では 14 日で成績を打ち切ったので非分解となった。人及び牛型はマンニットを実験 II に於て明かに分解した。実験 I では菌の発育不良なるため非分解となったと考える。各菌共通分解糖たるグルコース, マンニット, グリセリンの分解能を比較するとチモテー菌, 竹尾菌は人及び牛型より強い傾向を示した。〔実験 III〕葡萄糖分解生成物の検出。不揮発性酸たる焦性葡萄糖酸, 乳酸, 琥珀酸等は n-ブタノール, 醋酸, 水の混合液で, 揮発性酸たる蟻酸, 醋酸はアムモニア塩として 95% エタノール, 1% アムモニアの混合液で展開標準 Rf を定めた。発色剤は Bromcresolgreen を使用した。100mg/cc 含有 0.5% 葡萄糖生理食塩水を 37°C の孵卵器に収め 1 日数回振盪第 3, 第 5, 第 7, 第 10, 第 13, 第 15 日目毎に, 1 部を遠心, 上清を 60°C の減圧下にて 1/20 容に濃縮し spot して上記有機酸を求めた。チモテー菌, 竹尾菌にては焦性葡萄糖酸, 乳酸, 蟻酸等を証明した。結核菌に就いてかかる実験は簡単且つ実用的で分解のみならず分解生成物にまでその過程を動的に知り得る点で意義ある方法と思考する。なお有機酸に就いては α -ケトグルタル酸, フマル酸, オキサザル醋酸等を追加しこの 4 菌株につき追求する所存である。〔結論〕以上の実験で次の事を知った。①抗酸性菌の解糖はペーパークロマトグラフに依れば分解のみならずその分解過程, 分解生成物等を直接肉眼的によりダイナミックに観察判定出来る。②培養法と Schoetensack 法の成績はほぼ一致する。③チモテー菌 竹尾菌はキシロース, アラビノース, ガラクトース, グルコース, マンニット, グリセリンを分解する。ラクトース, マルトース, サツカロースは分解しない。④牛型菌 (1 号) はグルコース, マンニット, グリセリンを, 人菌型 (青山) はアラビノース, グルコース, マンニット, グリセリンを分解する。⑤各菌株の糖分解能に有意の差はないがチモテー菌, 竹尾菌は人及び牛型菌より分解が早い。⑥葡萄糖分解生成物はチモテー菌, 竹尾菌に於いて乳酸, 焦性葡萄糖酸, 蟻酸等を証明した。

17. 結核菌の Generation-time について(第1報)

新明美仁・横井敏夫・信太隆夫(北大結研細菌一主任大原達教授)

結核菌に対する血清、薬剤等の発育阻止作用あるいは菌の物質代謝に必要な物質、成長因子等について研究する場合、被検物質の菌に対する影響はその Generation time が促進されるか遅延されるかによって適確に判定することが出来る。然し菌の Generation time は用いられた培地、菌型、菌種及び測定の方法によって異なる。すでに Youmans 等は Mikrokjeldahl 法, Small inoculum technique 等によって結核菌の Generation time を求めて居るが、我々は後者を追試すると共に光電比色計による培養菌液の optical density から Generation time の測定を行って見た。〔I〕Small inoculum technique による Generation time の測定〔実験材料及び実験方法〕本法は1947年に Youmans が発表したもので我々は大体之に準じて実験を行った。すなわちソートン培養の BCG と kirchner 培地を用意し、5cc の培地中に湿潤量としてそれぞれ 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} mg の BCG を含むような7種の Tube を各10本ずつ作り、これ等の Tube を孵卵器中に容れ、毎日取出して黒い背景の下で検し、肉眼的に初めて成長の認められた時期を記録した。〔実験成績〕我々は上の如くして3回実験をくり返して行ったが、夫等の data を縦軸に接種菌量の対数、横軸に日数をとって図示するとそれぞれ直線関係が得られる。而してこれらの Line の傾斜すなわち Growth rate constant 及び Generation time は次の式によって求められる。すなわち $K = \frac{\log a - \log b}{t}$ $G = \frac{\log 2}{K}$ 但し $K = \text{Growth rate constant}$, $a = \text{最大接種量}$ すなわちこの場合は 10^{-1} mg, $b = \text{最小接種量}$ すなわちこの場合は 10^{-7} mg, $t = \text{培養日数}$, $G = \text{Generation time}$ である。その結果第1回目の実験では、 $K = 0.333$, $G = 21.7$ 時間、第2回目では $K = 0.375$, $G = 19.2$ 時間、第3回目には $K = 0.461$, $G = 15.6$ 時間という値が得られた。かくの如く3回共菌や培地が同じであるのに Generation time の値にそれぞれ多少の差が見られるのは用いた菌の状態の相違によるのではないかと考えられるが、この問題については更に検討を要するものと思われる。〔II〕光電比色計による Generation time の測定。すでに Calorimeter 又は Nephelometer を用いて培養菌液の濃度を測定し、結核菌の成長状態あるいは薬剤の菌の成長に対する影響等を検しようという試みは Wolinsky, Steenken, Fisher らによってなされて居り、特に Youmans 及び Kirchner は Nephelometer を用いて $H_{37}R_v$ の Generation time を求めている。我々はこれ等の実験を参考にして光電比色計を用いて培養菌液の optical density を日を追って測り Generation time を測定しよ

うと試みた。〔実験材料及び実験方法〕material として菌はソートン培養の BCG、培地は菌がなるべく均等に生えることを目的として Kirchner 培地に 0.05% の割に Tween albumin を加えたものを用いた。実験は2回くり返して行い菌の接種は第1回目にはソートン12日培養の BCG を湿潤量として Per cc 10^{-1} mg 及び 10^{-2} mg, 第2回目にはソートン10日培養の BCG を同じく Per cc 0.05mg 及び 10^{-2} mg となるように培地に加え、かかる培地を約 4cc ずつそれぞれ30~40本の Tube に分注して 37°C におき毎日それぞれの稀釈について2~3本ずつを任意に取出して光電比色計で大体500, 550, 600, 650 μ の4種の波長についてその optical density を測った。〔実験成績〕以上の如くして得たそれぞれの稀釈、それぞれの波長についての data を optical density の 100倍の対数を縦軸に、培養日数を横軸にとりて図示すると、それぞれ直線関係が得られる。而してかく光電比色計で測定したところでは所謂 logarithmic の増殖期は 5~7 日の比較的短期間であり、その後は optical density の読みは arithmetic に増えるように思われた。次にこの logarithmic-phase の data から最小自乗法によって Growth rate constant (K) を求め更に $\log 2/K$ によって Generation time を求めると、第1回目の実験では大体 48~49 時間、第2回目は 43~45時間という値が得られた。この際 Kirchner 培地への最初の接種菌量及び波長の種類等によって Generation time の値に大差は見られなかった。なお最初の接種菌量が 10^{-1} mg より濃いものでは対数的増殖期は見られなかった。これは菌量の多いことによる培地中の養分の比較的不足がその主因ではないかと考えられる。また 10^{-2} mg よりうすいものでは光電比色計ではその測定値が誤差の範囲としてしか現われず不正確であるといえよう。〔結論〕以上要するに我々は Small inoculum technique 及び光電比色計による optical density から BCG の Generation time を求め、その結果前者では 21.7, 19.2, 15.6時間、後者では大体43~49時間という値を得た。

〔質問・追加〕 山中太木(大阪医大微生物)

①液体培地での光電比色測定された時試験管口は 蔽封されたか。②波長別の発育に及ぼす影響は色素形成に強い関係がある。その点の考慮が要ると思う。

〔回答〕 ①蔽封して行った。②培地についた色を除けるような波長を用いた。

〔質問〕 遠藤武(慶大細菌)

Kirchner 培地等、液体培地に結核菌を培養して光電比色計における場合、菌が平等な浮遊液になり難い事に対する、何等かの考慮が払われたか。

〔回答〕 Kirchner 培地に 0.05% の割に Tween 80 を加え毎日よく振盪して培養した。②菌の状態が異なるため

と考える。

18. 鳥型結核菌のナイアシン代謝

田中伸一・清水俊雄・石下泰堂・茂兼英寿・木下達治
(名大第一内科)

私共は前回に引続き鳥型結核菌に於けるナイアシン代謝の問題につき検討した。今回は先ず鳥型結核菌培養中に於けるナイアシンの動態を見るべくこれを定量的に追求した。すなわち鳥型結核菌竹尾株を1白金耳ソートン培地に接種し、日を逐うてその培養濾液並びに菌体のナイアシン及びその誘導体を定量した。定量の方法としてはケーニッヒの反応を応用したハリスのブロームシアン反応とハフのアセトン縮合反応とを用いた。その結果培養濾液内のナイアシンは10日頃に菌体内のそれは3~4日頃に最大となり以後減少する。これに対してN-メチルニコチナミドは培養日数と共に漸次増加の傾向を示した。なお培養濾液中にはニコチナミド、DPNは存在しなかった。次に静止菌によるナイアシンの分解についてであるが、ナイアシン→6-ヒドロキシナイアシン以下の中間代謝を追求すべく、菌体とナイアシンとを37°C 8時間振盪した後トリクロで除蛋白しこれをイオン交換樹脂クロマトグラフィーで分離することを試みた。用いた樹脂はドゥエックス50で結果は核酸を構成する塩基に一致すると思われるフラクションに对照に比して増大をみとめた。次にナイアシンの分解に与る酸素の抽出を試みたがナイアシン酸化酵素は得られなかったがアセトン菌とした後磨砕上清を硫酸分画することにより6-ヒドロキシナイアシン酸化酵素を一応取り出すことが出来た。

〔質問〕 勝沼信彦(名大生化学)

菌体内ナイアシンを培養日数を追ってブロームシアン反応で定量しておられるが、結核菌では菌体内化合物定量には先ず定量抽出の正確度が定量性を決定する。ブロームシアン反応をされる前にどんな定量抽出法を採用されたか、又その抽出法の定量性についての検討はしてあるかお聞かせ願いたい。

〔回答〕 培養濾液のそれと、菌体の濃アルカリ処理による。いわば Total niacin ともいうべきものを今回は定量した。後者には、Niacin, Niacinamide, 及びそれ等の N-methyl 誘導体, Nicotine mononucleotide, DPN, TPN 等の総てがこれの範囲に入る。御教示のように抽出法の吟味は非常に大切で、私共の経験では、TCA, 5% H₂SO₄, Aceton が有効である。抽出回数は3~4回で実技上よい。HCl aceton や PCA は抽出効果は若干低い、以後の障害となる物を HCl aceton では真空濃縮で、PCA では KOH 中和、過塩素酸カリを濾別で除去出来る点が有利である。Case by case で有効適切な手段を用うべきであろう。

19. Transmethylation を中心とせる結核菌の代謝

と抗生物質の作用点について

山中太木・田中英世(阪大微生物)

私共はすでに人型結核菌の Transmethylation に就て、Creatine 形成をペーパークロマト法で実験した成績を報告した。すなわち基質 Glycocyamine, Methionine の場合は、Vitamine B₁₂ を添加した時のみ明かな陽性を示すが、基質に Arginine Glycine, Glycocyamine 及び Methionine を用いた時にはそのまま Creatine を形成し、Vitamine B₁₂ を要しない。次に Arginine, Glycine から一旦 Glycocyamine を形成させ、これに Methionine を用いた時には、同様そのまま VB₁₂ を要せず Creatine を形成する。更に結核菌は Creatine より Sarcosin 形成し、これを利用する。培養実験(岡・片倉培地, PG(x) 培地使用)でも、Sarcosin は、Creatine よりやや有効である。そして INAH は M/1000 程度でもメチル基転位を阻止するが Creatine から Sarcosin 形成、更にそれから先の利用の際には阻害効果は示さない。INAH の抗結核菌作用の本態は、アミノ基転位の阻害、VB₆ との拮抗等も挙げられているが、私共は色々の点(濃度、中間液、菌種等)から、メチル基転位程には重要でない主張する。更に又、人型結核菌のメチル基転位通路は単調であって、微量の INAH で阻害され、他の非抗酸性菌の、例えばチフス菌等では通路が広くて alternative であることも指摘される。野兔病菌や淋菌ではアミノ基転位は旺盛だが INAH 阻害は全くない。これは又メチル基転位能力を欠く点で INAH の阻害点もないといえるし、INAH 耐性結核菌(人型)ではメチル基転位能力に於いて耐性を示している。その他、ストマイ、クロマイ、テラマイ、レオシリン、ロイコマイシン、パス、チビオン等の作用を人型結核菌のほかチフス菌等を用いて、この領域での影響を比較検討した成績を述べた。特に人型結核菌のメチル基転位は INAH のみが阻害した。又 INAH は Asparaginase, Transthioation 等に大した影響を示さず、catalase には相当関係深いことにも触れた。

〔質問〕 伊藤文雄(阪大第三内科)

本実験に於ける反応温度を45°Cで行っておられるとの事であるが、かかる高温を必要とする理由は如何。我々は Candida albicans の菌体内 Glutamin 酸を放出せしめるのに50°C 20時間の Incubation を行った経験があるが、高温では菌体の Autolysis が起る可能性があると思う。

〔回答〕 ①37°Cでも長時間やると出るが、時間短縮の目的で45°Cでやっている。3時間でも出るが6時間すると更によく出る。②Candida albicansでもやはり同様に出る。これが結核菌のものと同種類のものかどうかは未決定である。③今後 Cell free でやる段階である。若し起ったとしても、Autolysisがあってもよ

とこの場合は考えている。

20. 結核菌より分離せる particulate particle の酵素系について

楠瀬正道・永井定・楠瀬恵美・永菅徳子・山村雄一

(大阪市医大・刀根山結研)

最近われわれは鳥型結核菌体より分画遠心沈澱法によって particulate particle と考えられる fraction を分離した。この fraction の生化学的性状はミトコンドリアに類似し、また、L-リンゴ酸 α 化酵素を“conjugate”の状態も含んでいることも明かにされた(酵素化学シンポジウム10, 114, 1954)。今回は particle fraction に含まれるコハク酸脱水素酵素の性質について報告する。便宜上、particle fraction を R, soluble fraction (100.000 \times g 遠心沈澱上清液) を S と略記する。(i) コハク酸の好氣的酸化には、R および S の両者の共存を必要とする。R または S の代わりに、チトクロームC, ATP, Mg⁺⁺, Al⁺⁺⁺, Ca₃(PO₄)₂ 等を加えてもコハク酸の酸化はおこなない。(ii) (95%N₂+5%CO₂) 気流中、赤血塩を水素受容体としてコハク酸 α 化を測定すると、Rのみでも若干酸化がおこなるが、Sのみでは全くおこなない。故にコハク酸脱水素酵素はRに存在すると考えられる。しかも両者の共存により酸化は著明に促進される。次にSを硫酸で分画、その0.3~0.6 飽和沈澱部分をカルシウムゲルで吸着後溶出、再び硫酸で分画したその0.3~0.6 飽和沈澱部分は、なおSと同様の促進作用を示した。またこの精製標品中には活性の強いフマラーゼが証明される。更にRのみによるコハク酸の酸化はフマル酸によって著明に阻害をうけるので、Sの促進作用はフマラーゼによるものであると推定される。(iii) 2,6-dichlorophenolindophenol(DCPP) を水素受容体とした場合にも、コハク酸 α 化にはRとSの両者を必要とし、牛の心筋から Massly 法により精製したフマラーゼはSに代用する。至適 pH は 7.5 である。(iv) チトクロームC (牛心筋より分離) を水素受容体とした場合にも、チトクロームCの速やかな還元が 550m μ の optical density の増加によって示される。この場合にもRおよびSの両者が必要であり、牛心筋フマラーゼはSに代用する。以上の結果より、コハク酸脱水素酵素はRに存在するが反応生成物であるフマル酸に sensitine のため、フマラーゼ添加によってフマル酸を除去することが必要である。またこのコハク酸脱水素酵素は、高濃度のマロン酸と反応前に接触させても、殆んど阻害をうけず、種々の点で従来報告された動物組織(Keilin and Hartree) または他の細菌の酵素と著しく異っていると考えられる。(v) Rにコハク酸および精製Sを加えると、550~552m μ に(560m μ 附近にも若干) 還元型チトクロームの吸収極大が表われる。またコハク酸の好氣的酸化は青酸で若干阻害される。これよりコハク酸の

好氣的酸化にはR中に存在するチトクロームC(又はC₁) およびチトクローム b 様の物質が electron carrier として関与するものと予想される。

〔質問〕 庄司宏(阪大微研・竹尾結研)

①一昨年報告された無細胞琥珀酸 α 化酵素とはこの particle をふくむものか。② マロン酸 insensitive についてはこの脱炭酸酵素はないか。③Rの立上りの悪いのがフマル酸によるとするならば、フマル酸生成の少ない反応初期にはRはR+Sの曲線に乗るべきではないか。何か他の要因もある様に思われるか。

〔回答〕 ①一昨年報告した無細胞コハク酸 α 化酵素は 12,000 r.p.m. 30分の遠心沈澱の上清であるから、今回の particle fraction および soluble fraction の両者をふくんでいる。② particle および soluble fraction にマロン酸脱炭酸酵素はみとめられない。③仰せの通り反応の初期にはRとR+Sの曲線は一致する筈である。しかしSの代わりに心筋からとった精製フマラーゼでも全く同様の曲線をとるので、Rの立ち上りの悪いのはフマル酸によるものと考えている。この酵素の最初の product はフマル酸では無く、フマル酸のあるデリパートでこれが酵素に極めて親和力が高いか、またはその平衡が著しくコハク酸側に傾いているという可能性も考えられる。なお以上は DCPD 等を水素受容体とした場合で、酸素分子との反応におけるSの作用には、フマル酸除去以外に更に他の要因が存在するように思われる。

21. 抗酸性菌及びその他 2, 3 の X 線廻折に関する実験

貝田勝美・杉山浩太郎・宮崎敬(九大結研) 上田幾彦(九大第一分校)

1952年以来、結核菌を主とする抗酸性菌についてX線廻折に関する実験を進めて来ており、すでに一部は第4回九州地方会総会、第28回日本結核病学会総会、第6回九州地方会総会に報告しているが、今回はその後の実験の進行と共に各例についての再現性も検討し、追加すべき新たな結果を得たので一応まとめて報告する。CuのK α の一定波長のX線に関して一定条件のもとにDebye-Sherrer 写真を撮影し、各例のX線フィルム上の廻折 halo を観察し、更に一定感度に調節したマイクロホトメーターにかけて、halo の位置や Intensity を確め、Bragg の公式を用いて測定値を算出した。この halo は各 Sample 中の一定波長のX線に対して、かような廻折を起させる面間隔をもった分子の構造的配列の存在を示しており、それらの間隔の長短に応じて廻折角は小又は大となり、X線フィルム上にかような像すなわち halo が現われるわけで、又 Intensity の強弱はかかる Δ で現われる面間隔をもった分子の構造的配列の存在の多少と関係がある。時間の都合で簡単に主として結果につ

いて述べたい。1) 以前に結核菌を主とする抗酸性菌の halo は殆んど一定の $4.26 \sim 4.27 \text{ \AA}$ の位置に現われることを述べたが、その後の実験成績も殆んど変りはなかった。2) これ等の halo は菌体の何に関係があるかを検索する目的を以て、H37Rv の 7 及び 4 週のスートン培養菌について、リポイドを含む脂質類の Fraction をとり、それらの halo を観察した。特に 4 週培養のものは、一層確実な halo の観察のため Univasal Mounting Camera を用いたが、その結果はいずれも、もとの菌の示す halo が磷脂質、結合リポイド等のリポイドに依ることを確めた。3) 前述の結核菌の Fraction に関連して 1953 年、Bloch 等の行ったいわゆる Cord-Factor に関する実験を参考にして、H37Rv 及び人 F の 2, 4, 6 週のスートン培養菌の Petroleum Ether Extracts についての halo の観察結果も、halo の示す性状より、もとの菌の示す halo と類似が見られ、なお若い程 sharp な傾向が認められた。4) 抗酸性菌以外の細菌では如何なる halo かを次に検索した。九大細菌学教室より分与をうけた黄色、白色、橙色ブドウ状球菌、枯草菌、大腸菌、変形菌 OX-19、チフス菌、赤痢菌、デフテリー菌、ブルセラ菌の 2 種、九大皮膚科教室より分与をうけた Candida alb. 等 12 種の各菌について halo の観察を行ったところ、総て 4.4 \AA 以上の broad な halo を示し中の一部、例えば 枯草菌の場合は鏡検下へうえつき 12 時間後では芽胞はなく、一昼夜後では視野の約 8 割に、3 週後は全く芽胞のみが認められたが、halo の上でも 12 時間後と 3 週間後では明かな差異が認められた。又他の菌についても多少の特徴があるように思われたが、詳細については省略する。5) 人 F 及び H37Rv については生の場合と処理した場合の比較では、以前に述べたような、halo が処理した場合は生の場合に比し、やや sharp になり、やや \AA で多く現われるという傾向はあまり著明には認められなかった。6) 人型結核菌中の薬剤耐性菌について、主として患者より分離し、九大結研で保存している菌株中より自由に選択した 10 数株の観察では、この実験の範囲内に於いて、感受性菌に比してやや \AA で多く現われる傾向があるように思われ、特に SM 耐性菌に認められるようであった。7) 以上の結果をグラフにまとめ、結論的に述べると、縦軸に \AA で halo の位置、横の上、下にそれぞれ抗酸性菌以外の菌、各種の抗酸性菌の名を並べたが、 4.4 \AA を境にして、抗酸性菌以外の菌は \AA で多く、薬剤耐性菌を含めて抗酸性菌は \AA で少く、しかも耐性菌を除けば殆んど $4.22 \sim 4.27 \text{ \AA}$ の一定の位置に現われるが、これは抗酸性菌の特徴と思われ、就中結核菌はこれと同じ一定の位置でかつ他の菌に比してやや sharp な halo を示すことは、結核菌に特有なものと思われる。薬剤耐性菌は前述の如く、抗酸性菌の示す一定の位置よりやや \AA で多く現われ

る傾向があるようであり、就中 SM 耐性菌に著しい様であった。最後に耐性菌については、なお例数を増すと共に感受性菌に耐性を獲得せしめた菌株との比較、その他の問題について追究したい。又抗酸性菌以外の菌についても多少の特徴があるように思われるが、それらの異同についても検討したい。なおツベルクリンについての実験は充分な結論に達していないので、今後の新たな実験にまつ。

22. 抗酸性菌の分類に関する研究 (第 5 報)

荒木雅 (札幌医大衛生)

前報に於て私は自然界抗酸性菌の諸種薬剤に対する感受性、耐性上昇度、耐熱性、テルル酸加里感受性、諸種酵素作用及び他の一般細菌学的性状について、これ等各性状間の関係を報告したが、今回は更に Dubos 培地間に於ける発育状態及びコード形成の状況を観察し、以上の諸性状とを対比して得た成績を報告する。〔実験方法〕Dubos 培地に於ける各菌株の発育速度は、培液の濁濁度を別に調製した濁度標準液 (per cc 5mg の濃度) と比較して、両者が同一濃度に達した時期を以て決定した。又コード形成の状況は、かようにして得られた Dubos 培養液から、毛細管ピペットで 1~3 滴の菌をデキガラス上に採り、そのままの状態 (普通行う塗抹操作はコード形成を破壊する) 37°C ふらん器中にて数時間乾燥後、Zihl-Neelsen 染色を施して鏡検した。〔実験成績〕① Dubos 培地に於て、大部分の菌株は、4~20 日で発育を完了する。然し乍ら 1 カ月の培養によっても、なお発育不能の菌株が何れも有色系に於て認められた。更にこの発育速度と岡・片倉培地上に於けるコロニーの色調とを比較すると、着色系に於ては紅色系の発育が最も速く、次で橙、黄の順である。又白色系は凡そこれ等の中間に位する成績を示した。②被検菌のコード形成状態を観察したところ、全くコードを作らず不規則な排列を示すものと、コードを作るものの 2 つの型が見られたが、コードを形成したものはその強弱に応じて更に 4 つの型に分けられ、全菌群を計 5 型に分類し得た。又本菌群中には、人型結核菌と同程度の強いコード形式を営むものが存在する事を認めた。③一般に岡・片倉培地上で乾燥性のコロニーを生ずる菌株は強いコードを形成し、この傾向は特に着色系に於て著明である。但しコード形成とコロニーの色調との間に特別な関係はない。④コード形成の著しい菌株は、カタラーゼ作用が弱く、耐熱性の強い傾向がある。⑤コード形成と薬剤感受性、耐性上昇度、抗煮沸性、テルル酸加里感受性、脱水素酵素作用、及び Kirchner 培地に於ける発育状態との間に於ては、特定の関係がない。以上の所見と前報までに報告した成績に基いて自然界抗酸性菌の質的性状と量的性状との関係を総括すると次の如くである。1) 順相関的關係の認められる性状; a) SM 感受性と SM 耐性上昇度

b) INAH 感受性と INAH 耐性上昇度, c) コード形成と耐熱性, d) INAH 耐性上昇度と耐熱性, e) INAH 感受性と耐熱性。2) 逆相関の関係の認められる性状; a) テルル酸加里感受性と耐熱性, b) コード形成とカタラーゼ作用, c) カタラーゼ作用と耐熱性。3) 岡・片倉培地上に於けるコロニーの色調との間に一定の関係が認められる性状; a) SM 耐性上昇度, b) カタラーゼ作用, c) 脱水素酵素作用, d) SM 感受性, e) テルル酸加里感受性。4) Kirchner 培地に於ける発育状態との間に一定の関係が認められる性状, SM 感受性。以上の如く, 自然界抗酸菌に於ては, 各種性状の間にそれぞれの程度に關係が認められたが, 就中岡・片倉培地に於けるコロニーの色調及び耐熱性の両性状に於ては, 他の多くの性状との間に密接な關係の認められたことから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。

23. 主として抗菌物質産生株の探索を意図しての自然界抗酸菌の研究 (第3報)

井村氏宏・梶原太郎 (広大細菌)

先に数回に亘り自然界抗酸菌のうちにも結核菌のみならず一般病原細菌に対して若干作らその発育を抑制するような菌株の存在することを報告したが, なお期待するような強力なる抗菌物質産生株の発見には至っていませんので, 更にこの度は土壤中より類似抗酸菌を多数分離し同時に喀痰及び動物体内に由来した類似抗酸菌をも併せて, それらの諸種細菌に対する態度に就いて追究した。なお今回の供試抗酸菌は土壤系抗酸菌 121 株, 喀痰系及び動物系抗酸菌各 2 株の計 125 株であったが, これらの分離成績及び集落性状等に就いては省略した。I) 人型及び鳥型結核菌に対する態度。対象菌: 人型結核菌 Frankfurt 株, 鳥型結核菌 A71 号株。検査法: 3% グリセリンブイヨン (pH6.8) に3週間培養後の供試抗酸菌培養濾液を10°C 30分加熱後10%血清加 Kirchner 培液にて10倍に希釈したものに人型 F 株の 1mg/cc 生塩水浮游液を $\frac{1}{4}$ 針で1滴宛滴下移植してから37°C に培養して観察した他に, 鳥型結核菌に対する抗菌作用の有無についてはグリセリン (2%)・葡萄糖 (1%)・味の素 (0.05%)・第2 磷酸カリ (0.05%)・寒天 (2%) の組成よりなる平板培地 (以下グリセリン・葡萄糖・寒天培地) 上にていわゆる Primary screening test によった。すなわち平板培地中央に供試抗酸菌を一直線状に塗抹し 37°C 48時間培養後鳥型結核菌生塩水均等浮游液 (10mg/cc) をそれに直角にいわゆる cross culture して 37°C 4日培養後その部分の阻止帯発現又は発育促進の有無を観察した。〔実験成績〕人型菌に対しては供試 125 菌株中動物系 V₇kf 1 号株が完全発育阻止的に作用したので, 更にこの菌株を15, 17, 18, 20, 21, 23及び24日とそれぞれ培養後の培液を Seitz 濾過器で濾過して得られた濾液に就いて前述同様の方法で検討したところ,

18日培養までのものでは精々 40~80 倍希釈程度まで人型 F 株の発育を抑制したに過ぎなかったが, 20日以降培養後の濾液では 160~320 倍に希釈されたものでもなお強力にその発育を阻止した。又鳥型結核菌に対しては土壤系 238 号及び 310 D 号株がその発育を許容しなかった。更に鳥型菌と同様の検査方法によった場合は 238 号株は人型菌の発育をも阻止した。II) 一般病原細菌に対する態度。対象菌: 大腸菌, 枯草菌, 脾脱疽菌, 葡萄球菌, 腸チフス菌, 赤痢菌, *Candida albicans*。検査法: 鳥型結核菌の場合と同様の方法によったが, 成績判定までの培養時間を48時間とした。〔実験成績〕①先ず供試抗酸菌 125 株中大腸菌, 枯草菌, 脾脱疽菌, 葡萄球菌及び *Candida albicans* に対して抗菌作用を示すものは土壤系 238 号及び 310 D 号株のみで, 前者は大腸菌及び枯草菌に対しそれぞれ15並びに10mmの阻止帯を作り脾脱疽菌の発育は全く許さなかった。然し他の2種の対象菌に対する阻止帯は全く見受けられなかった。又後者も大腸菌枯草菌, 脾脱疽菌及び葡萄球菌に対してはそれぞれ13, 11, 9及び14mmの阻止帯が証明された。更にこれら両菌株とも腸チフス菌及び赤痢菌に対してもかなりの阻止帯が認められた。②この両菌株を従来のグリセリン葡萄糖寒天培地を供使用する傍ら④葡萄糖 (2%)・味の素 (0.2%)・第2 磷酸カリ (0.1%) 寒天⑥葡萄糖 (2%)・ペプトン (1%)・第2 磷酸カリ (0.1%) 寒天⑦グリセリン (2%)・肉エキス (1%)・ペプトン (1%)・食塩 (0.25%) 寒天⑧塩化アンモン (0.5%)・葡萄糖 (0.5%) 硫酸マグネシウム (0.005)・第1 磷酸カリ (0.04%)・第2 磷酸カリ (0.16%)・食塩 (0.5%) 寒天⑨の培地より食塩のみを除いたもの等の培地上での検討では, グリセリン葡萄糖寒天培地を用いた際は両菌株とも既述とほぼ類似の抗菌作用陽性成績が得られたが, その他の5種培地ではいずれの対象菌に対してもその発育を抑制しなかった。③次にこの培地の pH が補正せずに得られた 6.0 では従来通りの阻止帯を作ったが, その pH を補正して7.0及び7.6とした場合では認むべき阻止帯は現われなかった。④この両菌株ともに3%磷酸カリ卵培地に5代累代後1カ月室温に放置したものに就いて検討した抗菌スペクトルは, その阻止帯の程度のみならず出現頻度も著明に少く抗菌力に低下が起るような成績であった。⑤これら抗菌力の低下も 10% 血清加 Kirchner 添加土壤通過によって, その抗菌作用は多少とも恢復させられた。以上要するに自然界抗酸菌のうちには結核菌及び一般病原細菌に対して可成り強くその発育を抑制するような菌株が存在することを認めた。なお土壤系 238 号及び 310 D 号株よりの抗菌物質の抽出は困難視されたのみならずその抗菌力の漸減が認められた。

24. セレンによる人型結核菌と非病原性抗酸性菌との鑑別法

宍戸昌夫・杉田暉道・浅沼力（横浜市大公衆衛生）

人型結核菌と非病原抗酸性菌との確実な鑑別法は、結核の診断上又は公衆衛生学的方面から考えても重要な事は今更改めていう迄もなく、諸先輩の多くの研究報告があるが、未だに動物接種法が最も確実とされている。所で最近林、内藤等の報告したテルライトを応用した鑑別法は、相当に確実性があるといわれているが、テルライトと同系統に属するセレンに就て、私共はいささかの検討を行ったので報告する。実験方法は、供試菌株の菌浮遊液を、0.00025, 0.0005, 0.001, 0.002, 0.004, 0.008 0.016 及び 0.032 の各%の濃度に亜セレン酸を添加した3%の小川の培地に0.1cc宛培養し、4~5週後に判定した。供試菌株は、人型結核菌は当教室保存のもの31株と、結核患者喀痰7例の計38例である。非病原性抗酸性菌は当教室保存のもの92例である。実験成績は、培養菌量0.1mg/ccに於て人型結核菌では喀痰は5例が0.004%で、2例は0.008%で発育が抑制され、菌株の方は21例が0.004%で、10例が0.008%で発育が抑制された。非病原性抗酸性菌では、すべてが0.008%以上の濃度で発育が抑制されるという具合であった。これらを更に濃度を低くして 10^{-4} 又は 10^{-5} mg/ccの培養菌量とすると、人型結核菌では保存菌株1例のみが0.008%の濃度迄発育し、非病原性抗酸性菌では、92例中33例が0.004%で、52例が0.008%で、残りの菌株はそれ以上の濃度で発育が抑制されるという状態であった。なお、喀痰に於ては培養菌量0.1mg/ccとは喀痰を4% NaOH水で5倍に積めてよく攪拌したものを0.1cc培養したものを以て、 10^{-4} 又は 10^{-5} mg/ccの培養菌量とは、先のNaOH水でよく処理したものをGaffky番号数に応じて、大体 10^{-4} 又は 10^{-5} mg/ccに相当する様に蒸留水で積めて培養した菌量を以てそれぞれこれ等に当てた。以上の成績から、0.1mg/ccの培養菌量で0.004%のセレンの濃度を境として人型結核菌と非病原性抗酸性菌とを区分する事はむずかしいように思われる。すなわちテルライトの場合よりも劣るようである。セレンはテルライトよりも遙かに毒性が強いといわれているが、私共の行った非病原性抗酸性菌の発育に及ばずテルライトの影響（第10回日本公衆衛生学会総会発表）の研究に於て、テルライトの濃度が丁度セレンのそれよりも10倍高濃度の範囲で作用している事から見てこの事が考えられ、これが今回の実験成績に大きく影響していると思われる。

25. 螢光法に依る抗酸菌検出の検討（第3報）喀痰の塗抹（螢光法）陽性、培養陰性なる場合について 莊野忠彌（大阪通病第二内科）

喀痰中の結核菌検出に当り塗抹陽性にして培養陰性を示す事実のある事はすでに先人が注目し、それに関する成績発表も僅かながら見られるが、一般には培養手技上の欠点に依るものと見做され勝ちであった。最近結核に

対する。化学療法が広く施行されると共にその頻度が高くなり切除肺病巣内の結核菌検出上の問題と共にこの現象が目されるに到った。私も一昨年来塗抹検査に螢光法を用い従来のチールネルセン氏法より塗抹陽性率の優れる事や、化学療法施行の患者喀痰には時には培養法にも秀れる事を発表して来たが、今回はかかる塗抹陽性培養陰性を示す症例45名を得たので、この現象が臨床経過上如何なる意を持つものかを解明せんとし次の如き知見を得た。観察及び検査方法：45名の症例は当科の入院及び外来患者で昭和28年9月以来昭和29年末迄の間に観察し得た者で、検査の喀痰は抗結核剤の喀痰内含有を可及的少くするため薬剤の注射、内服日の早朝起床時のもので検査回数は原則として1週に1回行い、菌の陰性化が続いてからは2週~1カ月に1回検査に供した。検鏡はオーラミン染色を施し油浸装置で確認せる菌が少くとも数視野に1個以上の場合を陽性とし、同時に培養は小川氏法に依る8%苛性ソーダ前処置法で判定は8週後とした。成績：塗(+)培(-)の現われる前後の塗抹培養成績の推移より分類すると塗(+)培(+)又は一時塗(-)培(+)となった状態から塗(-)培(-)となる過程に於て現われる場合が最も多く前者が20例、後者が11例で、終始塗(-)・培(-)で一時的にかかる現象を見る場合が9例に於て見られる反面塗(+)培(+)になる前過程として現われる場合が4例、残り1例はこれ等のものが交互に起る場合であった。この現象の頻度は唯1回のみが最も多く27例だが、6回に亘って引続き起る場合が2例あった。化学療法との関係は41例が化学療法施行中か施行後のもので何ら施行しない者でも4例にこの現象を見た。化学療法の種類はSM+INAH+PASが14例、SM+PASが14例、INAH+PASが12例、PASのみが1例であった。使用期間は3~6ヶ月間にこの現象を多く見、薬剤の効果が見られる時期と一致する。この現象の前後の排菌状態をみると化学療法開始後1~2ヶ月で、塗抹により数えられる菌数は同じでも集落数は激減する。塗(+)培(-)の場合塗抹菌数が先の検鏡条件で1視野に10個以下の場合が多い。病型との関係は最初から病状の安定した者（化学療法不施行の4例は全てこれに属す）か、化学療法により滲出性のものが増殖性にと変化し好転せる時期に現われるものが多く4例がこれに属した。予後との関係をみると、この現象を示した45例中、良好のものが34例、不変が7例、増悪が4例で、予後良好のものは全て、菌の塗(-)培(-)となる過程にこの現象をみたもので、増悪例はこれとは逆に塗(+)培(+)となる前程に現われたものであった。考案及び結論：化学療法を施さない者でも4例に於て塗(+)培(-)なる現象を見たが、その大部分は化学療法施行患者に見られしかも化学療法の効果が現われた後の時期すなわち3ヶ月以後にこの傾向が多く、塗(+)培(+)の状態から共に(-)

化する過程にみる場合は病状の好転と一致し、予後の良好たる事を知り得、この逆の場合は病状の悪化と一致したので塗抹検査と培養成績の相関関係より或程度予後を予測し得る事を知った。またこの現象の前後の塗抹菌数と培養集落数との関係を化学療法施行期間によって比較すると、塗(+)培(-)なる現象は抗結核剤の喀痰内混入や培養法そのものの不備をいう以上に明らかに培養の前処置に耐えられないほど菌が弱体化されているか、あるいは死滅された菌が大部分を占めていると考えるのが最も合理的と信ずる。

26. 結核菌染色証明法改良に関する研究

占部薫・中林進(広大細菌)

私は結核菌染色に際し塩基性染料を用いる場合、被染材料を弱アルカリ性にするか又は Ziehl 液に少量のアルカリ剤を加え、あるいは界面活性剤の中アニオン活性剤又は1ニオン活性剤を加えて染色する時は、結核菌の被染性並びにその検出率を増加せしめ得ることを本学会及び細菌学の中四国地方会で報告したが、他方先人のこの方面の研究について文献を調べたところ、すでに1934年に Fieldling はフクシン液に炭酸ソーダを加えると結核菌の被染性が増すと報告しており、1950年に Aubert は Calbol fuchsin に Tween 80 を加えることにより又 Konrad Humman (1953) は脂肪酸化合物のうち Cremophor-Ap-8290 を Ziehl 液に加えることにより共に結核菌の冷染が可能であると報告している。私は種々のアルカリ剤又は界面活性剤を単独或は種々組合せて石炭酸フクシン液に添加したりあるいはこれ等を喀痰前処理液として使用して見たところ、アルカリ剤及びアニオン活性剤は共に結核菌の被染性並びに菌検出数の増加に秀れた性能を示すことがわかったが、これらを塩基性フクシンに混合した場合、この混合液は一般に長期の保存に堪えないことが大きな欠点であるが、このうち比較的成績の良かった脂肪族高級アルコール硫酸エステル塩であるモノゲン(第一工業)を低濃度、すなわち 0.01% の割合に Ziehl 変法液(塩基性フクシン 4.0g, 無水アルコール20cc, 10% 石炭水 8.0cc)に加えたものが比較的長期間保存に堪え、しかも Ziehl 原法液による場合に比べて良い成績が得られたように思われる。モノゲン加 Z 変法液を調製後すぐ使用した場合は1分間加温し、そのまま1分間室温に放置した場合も2分間加温染色の場合も共に Ziehl 原法液使用2分間加温染色の場合に比べて約3倍の結核菌検出成績を示し、25°C のような低温の室温で5分間染色した場合ですら Ziehl 原法液使用の場合の約2倍の検出成績を示した。モノゲンを添加して1ヵ月室温に保存したもので染色したさいの成績では前者より多少劣ってはいたが、それでも1分間加温1分間室温放置の場合は Ziehl 原法液使用の場合の2倍程度の又低温染色の場合でも Ziehl 原法液使用の場合と

同程度かそれ以上の結核菌検出成績をあげた。なおこのモノゲン加 Z 変法液による染色標本では結核菌は天然光線では濃赤色乃至むしろ黒赤色に判然と識別でき、人工光線では濃赤色に浮び上って見え顆粒も比較的よく染っているようである。但し低温染色ではやや薄く染ってくる。以上の染色法と培養法との比較については目下実験継続中である。

27. 解屍体淋巴腺よりの結核菌の検索に就て

岩崎富士彌・海野一・小林佐吉(慈大林内科—主任林直敬教授) 吉村三郎(東京都監察医務院)

〔緒論〕肺結核とは限定しない解屍体淋巴腺よりの結核菌検出並びに淋巴腺の結核性病変との関係につき検索し、更に検出菌の動物接種及び抗結核剤に対する耐性検査を行った。〔検索材料〕本報告に使用した239カの淋巴腺は東京都監察医務院及び慈大病理学教室に於て無選択に104例の剖検体より採取したもので、腺の部位は主として肺門部淋巴腺に他に頸部淋巴腺、腸間膜、後腹膜等のものも採取した。〔検索方法〕淋巴腺をメスにて2分し半を細菌学的検査用に、他の半を組織学的検査に用いた。すなわち一半にて塗抹標本を4~6枚作り Ziehl-Neelsen 法(以下 Z-N)及び Rhodamin-Auramin 法(以下 R-A)を行いそれぞれ油浸装置及び螢光顕微鏡装置により菌数を算定した。Preis 法は3~4週目にコロニーより塗抹標本を作り行った。培養法は8%苛性ソーダを加えて粥状にした検体を2~3本の3%第1磷酸カリ培地に植え、1週より8週に亘り観察し、コロニーの数は4~5週目で算定した。耐性検査は間接法により1%第1磷酸カリ培地を使用し、SM, PAS, INAH はそれぞれ 1γ, 10γ, 100γ/cc のものを使用し3~4週後に判定した。動物接種法は、体重 350~500g の健康な海狸28匹を使用し、実験途中で斃死せるものはその時に、又生存するものは5週目で屠殺剖検し、各臓器の結核性病変を肉眼的、組織学的に検索した。一方組織学的検索では Haematoxylin-Eosin 染色法(以下 H-F 染色法)及び R-A 法を行い、淋巴腺組織の結核性病変像及び淋巴腺内に於ける菌の散布状態を鏡検した。〔成績〕H-E 染色法にて結核性病変を認めたものが、最も多く25例(淋巴腺数にすると32箇)、塗抹標本の Z-N 法では3例(8箇)、螢光顕微鏡検査では8例(23箇)、培養法では7例(17箇)の陽性例を得た。Preis 法では Kf 10前後のものが最も多い様であった。陽性例を年令別に見ると所見陽性例の最も多いのは21才~30才の年令層の様である。次に H-E 法による淋巴腺病変像を便宜上、乾酪・乾酪~結節・結節・石炭化の4種に大別し、各種検査方法による菌検出成績との関係を検索した(ここで乾酪とは腺の大半が乾酪化を示すもの、乾酪結節とは両者が混在するもの、結節とは結核結節の出現が病変の主体をなすものである)菌検出陽性は乾酪巣を有するものが最も多く、次に乾酪

～結節巣を伴うものであり、結節より成るものでは螢光顕微鏡法によってのみ少数の腺から菌を検出し得た。石灰化巣を有するものに於ては1例も陽性例を見なかった。組織の R-A 染色による切片と同一カ所の H-E 染色標本とを比較し、菌の散布状態を検索した結果乾酪巢中心部には菌は殆ど見られず、その周辺部附近に発見され、多くの場合菌は集合した像を呈し、菌数は極めて少数であった。肺病巣殊に空洞の有無とリンパ腺内に於ける菌発見との関係を見ると、空洞を有する例に於て最も多く、しかも大なる空洞を有するものは小空洞を有する例のものより比較的陽性例が多い様である。更に少数例ではあるが、SM, PAS, INAH に対する耐性検査を行ったところ 37 例中 SM, PAS, 各々 1γ 耐性菌を有するものが 2 例、SM 1γ 耐性が 1 例、計 3 例に耐性菌を認めた。なお肺門部リンパ腺以外の部位で菌陽性を示したものは、2 例の頸部リンパ腺であるがこの 2 例とも空洞を有するものである。又腹膜リンパ腺より菌を検出した 1 例は腎結核を有するものであった。培養により検出した菌を接種した動物試験では、全例に於て各臓器切片にて結核性病変を証明する事が出来た。〔結論〕1) 肺結核とは限定しない 104 例の剖検屍のリンパ腺 239 箇より結核菌の検出及び結核性病変との関係につき検索したが、菌検出は螢光顕微鏡検査による陽性例が最も多く 8 例（リンパ腺数 23 箇）、次に培養法による陽性 7 例（17 箇）であり、Z-N 法による陽性例は 3 例（8 箇）で最も低い様である。2) 結核菌は組織的に結核性変化なきリンパ腺及び石灰化巣を有する腺には全例に於て発見し得ず、陽性例は乾酪巣を有するものに最も多く、結節～乾酪巣を伴うものにはやや多く、主として結核結節よりなるものには最も少い様である。3) 菌のリンパ腺内に於ける散布状態には乾酪巢中心部には殆ど発見出来ず、多くの場合はその周辺部附近に見られ、全例とも菌数は極めて少数であった。4) 肺に空洞を有するものの肺門部リンパ腺は空洞のないものより検出率が高い様である。5) 耐性検査では 7 例中 3 例に耐性菌を証明した。

〔追加〕三種太郎（國療梅毒風園）

屍体材料及び切除リンパ腺よりの結核菌検出率は 1% NaOH 前処理を行わず、培養したものの方が高く、石灰化したリンパ腺からもコロニーを検出した。

28. 遠心管内培養法による結核菌の早期検出

佐藤幹夫・山本四郎・木村勝直（名古屋市城東病院一院長落合国太郎）

喀痰中結核菌の検出を高めるため硫酸アルミニウムによる吸着法を施し、さらに遠心管内培養法を行い顕微鏡的集落を認めることにより早期に菌を検出する試みを行った。〔培養方法〕結核患者の喀痰 0.5cc に 16% NaOH を 1 滴加えガラス棒で攪拌して均等化し、更に約 6cc の溜水を加え稀釈する。これに 5% 硫酸アルミニウムを

0.5~1cc 加えると微細な水酸化アルミニウムの絮状沈澱を生ずるからこれを 2000 廻転 10 分遠心し、沈澱に更にこれと等量の 8% 苛性曹達を加え混和する。その 0.1cc ずつを下記に示す変法キルヒナー液体培地 5cc を入れた遠心管に加え培養する。

培地処方：—

第 1 磷酸加里	1.0	反応を修正することなく 120°C 15 分滅菌後血清を 10% の割合に入れる。
第 2 磷酸曹達	0.3	
アスパラギン	0.5	
グリセリン	2.0	
硫 苦	0.06	
枸 椽 酸 曹 達	0.25	
10% マラシット緑	0.05	
水	100	

5 日及び 7 日目に取り出し 2000 廻転 5 分遠心後沈澱を普通スライドに塗抹し、乾燥後チール・ネールゼン氏染色を施し弱拡大で検鏡し、更に油浸強拡大で確認する。尙硫酸アルミニウムの代りに明礬液を使用して同様水酸化アルミニウムにより菌を吸着出来る。以下この遠心管内培養法を S.P. 法と呼称する。〔培養成績〕(其の 1) ガフキー 0, II, III 号程度の喀痰を採り、S. P. 法及び 4% NaOH 処置による小川培地法及び 4% H₂SO₄ 処置による岡・片倉培地とを比較すると、発生集落数は S.P. 法は顕微鏡的集落であり、他は肉眼的集落であって、その数において喀痰稀釈度の低い過程では明かに固形培地が勝っている。これは S.P. 法においては集菌により菌が 1 カ所に集中する傾向が強い為であると思われる。しかし S.P. 法の集菌力は極めて良く第 1 例は S.P. 法 10⁻⁴、小川法 10⁻⁴、岡・片倉法 10⁻² 迄菌を検出し、第 2 例では S.P. 法 10⁻⁷、小川法 10⁻⁶、岡・片倉法 10⁻⁵、第 3 例は S.P. 法 10⁻⁸、小川法 10⁻⁵、岡・片倉法 10⁻⁸ 迄菌を検出し、いずれも S.P. 法は固形培地に等しいか或いはそれより勝っている。(其の 2) さらに塗抹陽性の喀痰を 2 分し半量を S.P. 法の術式に従い集菌培養し、残りの喀痰を 8% NaOH を等量加え、此れを遠心することなく変法キルヒナー培地を入れた遠心管内に 0.1cc 宛入れ培養し逐日的に検鏡した。その成績は 5 日及び 7 日では集菌の有無に拘らず殆んど両者とも無数に發育し、比較は不能であるが、各例共に 2 日及び 3 日の集落数及び發育程度は集菌後培養の方が成績が良く、又菌が集団して發育する関係から検鏡が容易である。(其の 3) 塗抹陰性の喀痰 67 例を S.P. 法及び 8% NaOH 前処置後小川培地法により培養し、S.P. 法は 5 日及び 7 日に検鏡。小川培地は各週毎に 8 週迄観察した。その成績は S.P. 法では 5 日に 19 例、7 日に 14 例計 33 例 (49.3%) の菌陽性例を認めたのに反し、小川培地では 3 週 7、4 週 9、5 週及び 6 週各 1 計 18 例 (26.9%) に菌陽性例を認めたのみである。これをさらに両培地に陽性陰性別に集

計すれば小川法及びS.P.法共に陽性13例(19.4%)で、小川性法陽性 S.P. 法陰性は僅かに5例(7.5%)であるが、小川法陰性 S.P. 法陽性が20例 (29.8%) の高率であったのは極めて興味あることである。特に此の検査例では大多数が化学療法実施中あるいは実施後の喀痰で固形培地においては、このような条件下では肉眼で認め得る程度に発育し得ない菌族が少なくない為ではなからうかと思われる。尙此の実験にあたり雑菌が発生したのはS.P.法小川培地法共に各5本であつた。(其の4)尙私共は塗抹陰性の喀痰20例について S.P. 法と岡田・山田両氏の法による遠心管内培養法とを比較したが、S.P. 法では3日に2、5日に3、7日に7例の菌陽性例を認め、岡田・山田氏法では3日に1、5日に1、7日に3例の陽性例で且つ雑菌が生え易く S.P. 法の優位にあることを知った。以上私共は喀痰の硫酸アルミニウムによる吸着集菌法を遠心管内培養法に併用し、短時間内に顕微鏡的集落を発見することをはかり上に述べたような成績を収めた。即ち本法は検鏡に際し弱拡大で見得る利点があり、その検索は数分にして終り、菌陽性率も高く結核菌の早期発見上有意義であると信ずる。

29. 結核菌並びに BCG の均等培養 (続)

占部薫・松尾吉恭 (広大細菌)

Kircher Sy-Ser 培液に微量の流動パラヒンを添加した自案 Paraffin-Kirchner Sy-Ser 培液内に於ける結核菌並びに BCG の均等培養についてはすでに再三にわたり報告したところであるが、そのさいの培液組成には異種蛋白がふくまれているという免疫学的不備に鑑み、その後ひきつづき無蛋白培液もしくは非抗原性培液における均等培養をうべく検討を進めると共に、Dubos 培液並びにこれが変法培液の均等培養における価値、ひいてはその改良などにつき検討中であり、その一部は昨年秋の日本細菌学会中国四国支部総会において略報したが、現在迄の知見は次の通りである。(I)自案各種蛋白培液内に於ける結核菌(鳥型菌を除く)並びに BCG の発育は静置培養にあっては可能の場合もあり、殊に活性炭加及び活性炭-Cholesterol 加培液では Kirchner Sy-Ser 培液に匹敵する発育も認められたが、均等培養をうるために振盪法を援用したり、Tween 80を添加したりすると発育が認められないか或は著しく低下した。(II)Dubos 培液では Albumin 添加と血清添加との別をとわず、すべて肉眼的にはすぐれた均等度と豊富な発育とが認められたが、顕微鏡的均等度は振盪培養のさい Paraffin-Kirchner Sy-Ser 培液のそれにまさるとも劣らなかつたのに対して静置培養例では著しく劣つた。非抗原性培液として血清 Albumin を Dubos 基礎培液で氷室内24時間透析したものをそのまま培地として用いると、発育量の点ではなお Dubos 培液などに比してかなりの遜色が示されたが、均等度は劣らず、培液組成の改善に今後

の期待がかけられた。(III)次に近来、近代工業の各分野に於いて重要な地歩を占むるにいたつた界面活性剤の本培養への援用を試みた。活性剤としては Anion 5種、Cation 3種、Tween 80をふくむ Nonion 18種を、炭素源として glucose を窒素源として味の素をふくむ磷酸塩培液に 0.5~0.0005%の遙減稀釈濃度に加え、BCG 及び鳥型結核菌 A62株 (R型変異株) を移植して静置培養した。先ず BCG についてみると、血清非添加培液内においても Nonion 中の P.O.E. cetyl ether(10M.) Anion 中の Cetyl phosphate 加培液内では緩徐ながらかなりの液内発育が認められ、P.O.E. nonyl phenol にもわずかながら発育促進作用があり、これらの培液内で BCG は管底に雲絮状に発育をいとなみ、軽く振つただけで肉眼的に良好な均等度を示した。血清加培液内では Cation のうち Dodecyl pyridium chloride が強く、Anion 中では Sulfated castor oil と Lauryl sulfate とが、又 Nonion 中では一般に Laurate が BCG に対して発育阻止的であつたが、その他の活性剤では良好な発育が認められた。均等発育の点についてみると、Cation では全くその様相がうかがわれず Anion 中 Oleyl cetyl sulfate にわずかの均等効果がみられたにすぎないが、Nonion 中の P.O.E. nonyl phenol は肉眼的に極めて良好な均等度を示したのみならず、顕微鏡的にも(なお多数の菌塊が認められはしたが) Tween 80のそれに比してむしろまさつており発育量もより豊富であつたし、Cetyl ether, Oleyl ether の P.O.E. のそれは Tween 80 に匹敵した。鳥型菌 A62株は血清非添加培液内でも一般に良好な発育を示したが、Cation, Anion の順に強く発育を阻止し Nonion では Laurate が一般に発育阻止的であつた。しかし血清加培液内ではこれらの界面活性剤の毒性は血清によって著しく中和されうることがたしかめられた。均等発育の程度は一般に BCG の場合よりも良好で Anion, Cation の一部はわずかに均等発育を促進したにすぎなかつたが、Nonion では Laurate, Stearate を除いておおむね均等効果が認められ、殊に Cetyl ether, Nonyl phenol の P.O.E. は極めて良好な均等発育促進性を示して Tween 80 にむしろまさつており、Oleyl cetyl の P.O.E. は Tween 80 に匹敵した。以上の成績は実験開始後いまだ日ながれなく、還元培養による生菌単位の計測とか、集落性状などについての検討もこれからであつて極めて初期の段階にあるため、界面活性剤と結核菌並びに BCG の発育との関係について確定的なことは言いえないが、現在迄の知見からして少くとも Cation 及び Anion 活性剤は一般にむしろ発育阻止的であるばかりでなく、均等発育促進能においてもとるに足りないものようであつて本研究の目的にはそいえないものと考えられるが、Nonion 活性剤の中には Laurate や Stearate のように適当で

ないと考えられるものもあるにはあるけれども、P.O.E. cetyl ether とか nonyl phenol とかのように、発育量においても均等度においても Tween 80 に劣らないものがあるようである。しかも無蛋白培養内に於いてもこれら界面活性剤の援用によって液内均等発育の可能性が示唆されたところから、今後更に培養組成の検討と界面活性剤の至適濃度をより詳しくすることによって、無蛋白非抗原性培養内に於ける豊富な均等発育が期待されると考える。

30. 5% 炭酸ガス加空気内での結核菌の分離培養

(続報) 喀痰中の抗結核剤の影響

宝来善次・辻本兵博・安倍一郎・小西徹・堀内弘通
(奈良医大第二内科)

29年秋の本学会近畿地方会にて、喀痰よりの結核菌分離培養に、ガラス蓋付試験管を用い 5%CO₂ 加空気中で培養する時には、従来の培養に比べて極めて良好な成績を得る事を報告した。すなわち、①菌陽性率では全陽性例に対して約18%高率に発見される。②集落発見平均日数は、塗抹陽性例では CO₂ 加空気下で12.1(11~17)、空気下で18.1(13~36)日で、塗抹陰性例でもそれぞれ、15.5(11~26)、22.5(15~38)日となる。全例平均すると前者13.9日、後者19.9日で6日間早くなる。③ CO₂ 加空気中では集落数も陽性例の約55%に空気中のそれより多く認められ、集落数が同じものを比べても集落発見日数は約4日間早い、等がその概要である。演者等は29年春の近畿地方会で、Streptomycin の結核菌増殖阻止作用は5%CO₂ 下ではある程度減弱する事を報告し、又増殖阻的に作用する油酸も同一条件下でかえって増殖促進的に作用する事が小谷、辻本、三浦等によって分っている。Fruhlinger 及 Balo, 又我が国でも多数の研究者が化学療法実施中の患者喀痰について塗抹陽性、培養陰性が約20%みられ、これは被検材料中に含まれる PAS 等の抗結核剤に関係があるといい、この喀痰中の結核菌の生死に関して種々の論議が行われている。以上の事実を考えあわせると、5%CO₂ 加空気環境下で好成績をあげたのは、喀痰中に含まれる種々の増殖阻止物質の作用が減弱された事が一つの理由と考えられる。そこで喀痰中の抗結核剤の影響を検討するために次のような分析を行った。1) 既報の実験成績中 CO₂ 加空気下のみで菌陽性を示した14例を抗結核剤の使用の有無によって分類した。PAS あるいは INAH 内服中の喀痰40例中に8例(20%)、不投薬患者42例中に4例(9.5%)を認めた。しかも塗抹陽性培養陰性群は全部(4例) PAS 内服者でその中3例は CO₂ 加空気中で陽性を示した。2) CO₂ 加空気、空気両条件下共に菌陽性を示した例を特に PAS 使用の有無について、集落数及び集落発見日数を中心に分類してみた。両者に集落数に著明な差が認められる場合が PAS 内服群に60%で、不投薬群の45%よ

り多い。又集落発見日数も CO₂ 加空気中では PAS 内服に拘らず殆ど差を認めないが、空気中では PAS 内服群により長くなる傾向がある。以上の成績から、喀痰中の PAS の存在が菌増殖に影響を及ぼす事は明かで、しかもそれは5%CO₂ 加空気下で培養する事によってある程度除かれていると考えられる。そこで、次に抗結核剤を使用した事のない患者喀痰を4倍量の4%NaOHで均等化し、その一部に種々の濃度の PAS, INAH, SM の溶液を1/10量加えて(従って実際の喀痰にはこの5倍の濃度)約15分間放置し3%KH₂PO₄ 小川培地に接種した。3) いずれを作用させもて集落の発見日数は CO₂ 加空気下の方に約5日間早くなる。4) 喀痰中に菌量が多いと100 γ /cc 程度の PAS, INAH の添加の影響を受けにくい、菌量が少いと各例によって異なるが CO₂ 加空気下では10~100 γ /cc の高濃度(PAS, INAH 共に)含まれても菌は増殖し、空気中の増殖可能濃度の3~10倍に相当する。SM を添加した場合は、喀痰中に含まれると考えられるより遙に高濃度の10 γ /cc が存在していても両条件共に菌の増殖を認める。以上の成績を更に確めるために、岡・片倉培地中に抗結核剤を予め含有させて菌を接種した。5) 用いた菌株によっても相当異なるが、PAS, INAH, SM 共に5%CO₂ 加空気中では空気中の抗菌力の3~100倍弱められるという結果を得た。以上のように喀痰中に PAS, INAH, SM が含有されていると、分離培養の成績が悪くなり、染色によって結核菌を認め得るにも拘らず、培地上に集落を認めない例数も増加する。そしてこれらの増殖阻止作用は5%CO₂ 加空気の条件ではある程度除かれる。換言すると、5%CO₂ 加空気下で喀痰の分離培養をすると、喀痰中の抗結核剤の結核菌に対する増殖阻止が結果的には弱められるためであると考えられる。

31. SC 法及び SCC の方法並びに置換液体培養法に関する研究

内藤益一・中山健治・吉田敏郎・津久間俊次・今井節朗・東向一郎(京大結研第3部)

私達は先に第8回及び第10回の日本結核病学会近畿地方会に於て、SC 法及び SCC の一新法に就て報告したが、ここに更めてその術式及び2~3の成績について述べ、更に抗結核剤の in vitro の性能を検索するに当って物質の安定性という点を考慮に入れて液体培地を一定期間毎に置換しつつ菌を培養する方法を工夫したので併せて報告する。I. SC 法: この法の手技は内径20mm、高さ5mmのガラスリングをリングと同様の大きさに輪切りさせるポリエチレン膜を挟んでオブジェクトガラスの上に置き、その上にもう1枚のオブジェクトガラスを冠せ、140°C、40分乾熱滅菌器中に入れると、器具の滅菌と同時にポリエチレン膜は熱により熔融して、ガラスリングとオブジェクトガラスは密着する。次に被覆オブジ

ェクトガラスを雑菌混入を防ぐために斜に開き、白金耳を以て予め調製した菌液又は喀痰その他の被検物を処理した沈渣を塗抹、キルヒナー培地を駒込ピペットでその上に2~3滴滴下し、カバーガラスを熔融したパラフィンに浸し、素早くガラスリングの上に乗せてパラフィン封緘を行う。そして37°C 孵卵器中5日間培養後取り出し、ガラスカバーを脱し、孵卵器中で培地をそのまま乾燥、その後基底オブジェクトガラスの底部を加温、ポリエチレン膜を軟くしてリングを脱すと同時に固定を行い、しかる後チールネールゼン染色を行い鏡検する。本SC法を用いて喀痰中の結核菌を培養した103例の成績を同時に行った集菌法及び岡・片倉培地培養の成績と比較すると、岡・片倉に比べて優るとも劣らぬ培養性能があり、従来のSC法の如き菌の脱落する恐れがなく、その上僅少の材料で実施出来る等の利点がある。II. SCC法：この法の手技は内径14mm、高さ3mのガラスリング3カをオブジェクトガラスの上にパラフィンで固着し、その上にガラスカバー(特別製)を置くのであるが、以上の操作はすべて無菌的に行う。即ちこれらのガラス器具に予め120°C、1時間乾熱滅菌を行い、ガラスリングを固着するには、リングをガス火中中で加温、熔融したパラフィンに浸し、ガラスカバーを一寸持ち上げて速かにオブジェクトガラスの上に固着させる。リングの固着が終れば、中央のリング内に乾燥防止の水約0.3~0.5cc入れ両側のリング内には予めベンゼン法で調製した菌液を1白金耳塗抹、ベンゼン蒸発後、その上に被験動物より採血した血液1滴を落し、速かにガラス棒で薄く延ばす。次いでガラスカバーをパラフィンで封緘、37°C 孵卵器中7~10日間培養後取り出し、ガラスカバーを脱し、蒸溜水で約5分間溶血、5%フォルマリン溶液で10~15分間固定、水洗、リング脱却、乾燥、チールネールゼン染色を行い弱拡大で鏡検判定を行う。本法を用いて、Dihydrostreptomycin 及び PAS を体重1kg 当り100mgを健康家兎の耳静脈に注射、時間的に採血、全血の静菌力を検討した所、Dihydrostreptomycin では7時間、PAS では5時間まで菌増殖が抑えられた。本法の利点はこれまでのSCCに比して雑菌混入が殆どなく、血液膜の脱落がない事である。III. 置換液体培養法：この法は10%血清加キルヒナー培養液による一定の稀釈列を2cc ずつ加えて小沈降管に菌接種後、1週間に2度ピペットをもって管底に僅かに液の残るのを限度として上清を棄て、新たに調製した前同様の稀釈列を注加する方法である。先ず遠心沈澱してから置換するか否かによって成績に差が生ずるかどうかが Isoniazid について検討したが、遠心沈澱は必ずしも必要でないといひ得る成績を得た。それで遠心沈澱を行うことなしに培地を入れ換える方法で Streptomycin, Dihydrostreptomycin, PAS 及び Isoniazid の4者について培養4週後の発育阻止力を

沈渣を鏡検所見により、普通の方法によるものと比較検討した所、次のような結果を得た。すなわち Dihydrostreptomycin 及び PAS では培地を置換しても殆ど影響を見なかったが Streptomycin 及び Isoniazid では置換した方が2~4倍発育阻止が強く現われたのである。この実験は未だ行った回数も少く今後改良すべき点も多々あるものと思われるが、抗結核剤の菌に及ぼす影響の未だ考慮されなかった一面を検索するための一方法として研究を推し進めて行きたい。

32. 小川培地における凝固水 pH の推移と接種量が集落発生に及ぼす影響について

杉山育男・綾部和三郎・亀崎華家・朝倉宏・伊藤忠雄
(国療神奈川)

結核菌の分離培養に当っては現在種々の培養法が試みられているが、小川培地による定量培養法が普く実施されているようである。培地の pH が集落発生に及ぼす影響と関連して、その組成、各種前処理の検討も行われてきたが未だ充分検討されたとはいえない。私共は伊東 Beckman G 型 pH メーターによって小川培地における凝固水 pH の推移を経時的に計測し、各種前処理において接種量が集落発生に及ぼす影響について検討した。〔実験I〕1%NaOH 処理喀痰：臓器の定量培養に当っては、1%NaOH 水で前処理し、1%KH₂PO₄ 培地(以下1%培地)に培養する方法が用いられているが、本実験では喀痰を被検材料として実施した。喀痰C、Dを等量ずつ混合攪拌し1%NaOH 水にて5倍に稀釈、60分前処理しその0.1ccより0.5cc迄をそれぞれ18又は6本の1%培地に培養し各培地のpH推移をみると、接種量が0.3, 0.4, 0.5ccの如く多い場合でも培地のpH緩衝能は比較的大である。この集落発生数をみると接種量の増加と共に培地1本当り平均集落数の漸減が認められ、0.1cc平均では加速度的に減少をみる。〔実験II〕4%NaOH 処理喀痰：供試喀痰A、B、C、Dをとり4%NaOH 水で5倍に稀釈、20分前処理して、各種接種量を6本又は3本の3%KH₂PO₄培地(以下3%培地)に注入培養し培地凝固水の推移を平均してみると、0.1ccより0.2, 0.3, 0.4, 0.5ccと接種量が増すにつれて培地の緩衝作用は低下する。集落発生数をみると、0.1ccから0.3cc注入までは培地1本当りの平均集落数は、接種量の増加につれて軽度の増加をみ、0.1cc平均では接種量が0.2cc及び0.3ccになると減少する。従って定量培養の見地より見るならば、かかる組成を有する培地における接種量は0.1ccが適当であることが認められる。〔実験III〕4%NaOH 菌浮游液と Natresin 加培地：培地の緩衝能の良否は集落発生と密接な関係を有することが以上の成績より明瞭にわかるので、0.1%, 0.3%, 0.5% Natresin 加培地(以下N加培地)を試作し、4%NaOH 菌浮游液を前述同様8本及び4本の培地に接種

して pH の推移、集落発生数を盲検した。又 4% NaOH 水を 3% 培地に注入して pH 推移の対照とした。N 加培地の pH 推移をみると、各種接種量とも、0.3% 及び 0.5% N 加培地は接種後 3 乃至 7 日頃より pH 緩衝能が大となっている。この集落発生数をみると、0.1cc 注入では、0.1% 及び 0.3% N 加培地が、0.2, 0.3, 0.4cc, 注入では 0.3% 及び 0.5% N 加培地が比較的集落発生は良好であった、0.5cc 注入では 0.5% N 加培地にのみ集落発生をみた。〔実験 IV〕8% NaOH 処理喀痰：供試喀痰 C, D を 8% NaOH 水にて等量に希釈、20 分前処理して、前述同様 3% 培地及び 0.3% N 加培地に 10 本乃至 4 本それぞれ接種して凝固水 pH の推移と集落発生数を比較した。対照として同じ喀痰を 4% NaOH 水で 5 倍に希釈、20 分前処理して、3% 培地にそれぞれ 3 本宛接種した。接種した培地の凝固水 pH の推移をみると、0.3% N 加培地の緩衝能は 3% 培地に比して接種後 3 乃至 15 日で大となり、0.1cc 注入では至適 pH 以下に低下し、0.2, 0.3cc 注入では至適 pH に近づき、更に接種量が増加すると緩衝作用は次第に緩慢となる。この集落発生数をみると、接種量が 0.1cc では有意の差は認めないが、0.2, 0.3cc と増量すると、3% 培地に比して、N 加培地が若干優っている。3% 培地及び N 加培地の集落数を対照と比較すると、両者とも対照に劣っていることが認められる。培地の汚染をみると、1% NaOH 及び 4% NaOH 処理では N 培地の汚染は認められなかったが 8% NaOH 処理では 3% 培地で 4.2%, N 加培地で 4.1% の汚染をみた。〔結論〕1, 1% NaOH 処理、1% 培地接種では、接種量が多い場合でも培地の緩衝能は比較的大きく、集落発生は接種量の増加につれ、培地 1 本当り平均数は漸減し、0.1cc 平均では加速度的減少をみる。4% NaOH 処理、3% 培地接種では接種量の増加に伴って培地 pH 緩衝能は緩慢となり、集落数は 0.1cc 注入より 0.3cc 迄は軽度の増加をみ、0.4, 0.5cc 注入では集落の発生を認めなかった。2, 8% NaOH 処理、3% 培地及び 0.3% N 加培地接種では、N 加培地の pH 緩衝能は 3% 培地に比し接種後 3 乃至 15 日で大となり、0.1cc 注入では至適 pH 以下に低下し、0.2, 0.3cc 注入では至適 pH に近づき、0.4, 0.5cc では緩衝作用は次第に緩慢となる。集落発生は接種量が増加するにつれて、3% 培地に比し、N 加培地が若干優っている。しかし両者とも対照と比較すると劣っていることが認められるので、更に少量接種では 0.1% N 加培地について検討する必要がある。又汚染の点を加味するならば 4% NaOH 水 5 倍希釈、前処理の上 3% 培地に少量接種する培養法が今の所好適なものと考えられる。

33. 湯田温泉水の結核菌に対する作用

柴田正衛・高岡久雄・上野滋夫・永下登(國療湯田)

〔緒言〕昭和 13 年千葉の佐藤氏は温泉水は結核菌の発

育を抑制すると報告しているが、我が湯田温泉水は如何。温泉水で作製せる Kirchner 培地の SCM 培養実験と温泉水に浸漬せる結核菌の発育態度を観察した。〔実験方法並に成績〕実験第 1：人血清 Kirchner 培地の蒸溜水の処を温泉水で代えて作製し、廣大占部教授のシャーレーによる変法 Slide Cultur 法を実施した。菌液は菌体ばらばらになった単個菌の Gaffky III~IV 号 程度分布のものを得るために、生食にて磨砕混和後遠心沈澱して上清を使用する。実験せる菌は人 F 菌、鳥型 61A である。発育状態の判定は、今村内科の規準にて陰性(-)より最強陽性(卅)迄になっている。発育している菌小集落の菌体個々は長大になり、顆粒に富み、分裂増殖していることが、形態所見からも判然と認められる。集落あるいは菌叢も乱雑な排列でない観察される。人 F 菌の温泉 Kirchner 培養(SC法)に抛る(-)より(卅)に至る発育所見を顕微鏡写真にて示す。蒸溜水を以て作製せる本来の Kirchner 培地を、すなわち対照と称し、温泉にて作製せるを温泉 Kirchner、 $\frac{2}{3}$ に濃縮せる温泉にて作れるを $\frac{1}{3}$ 濃縮温泉 Kirchner と称し、対照の人血清を滲出性肋膜炎(化学療法中)の胸水にて代用せるを胸水 Kirchner 培地とそれぞれ称し、発育状態を表示する。人 F 菌の場合も鳥型菌の場合も SCM 発育所見は 1 日の差あるいは 2 日の差で対照より温泉培養の方が早く軽度陽性あるいは中等度陽性になる。後期には対照も温泉も同様の発育所見である。人血清の給血者を異にせる実験例では、発育は極端に悪くなって、対照では陰性に終り、温泉では第 9 日目に軽度陽性になっている。胸水 Kirchner 培養では、化学療法患者の胸水なるため発育せず。実験第 2：各種濃度温泉水すなわち 10% より 300% ($\frac{1}{3}$ に濃縮せるもの)に渉る系列に作用時間は直後より 11 日に渉って、人 F 菌 0.1mg/cc 含有率にて浸漬した。且つ孵卵器内放置浸漬と室温放置浸漬の 2 群に分った。浸漬してしかる後 0.1cc ずつ 1% 小川培地に培養した。すなわち菌液の菌の Medium を温泉水にした時の、その後の菌発育状態あるいは生存力を見る実験である。成績は対照すなわち生食水に浸漬せる人 F 菌と同様に非常によく発育した(夏期の実験では、孵卵器内 37°C 放置と室温放置との間に差異はない)。芽すなわち初発発育は 12 時間浸漬迄では浸漬時間長い程、遅延する。1 日以上浸漬では一定の傾向がない。次に室温 1°C より 12°C であった各々の実験では、37°C 孵卵器内放置にて温泉浸漬作用後の菌発育は 12 時間迄は対照と同様非常によく発育している。室温 1°C ~ 12°C 放置の方も非常によく発育している。孵卵器内 37°C に 1 日以上、7 日迄浸漬放置すると俄然発育悪くなって、対照の 1 日 3 日浸漬と 10% 50% 温泉水浸漬 1 日間は発育している例外を除き、他例は全部発育しない。これに反し室温放置では 1 日間以上、7 日間浸漬しても、発育している。〔考案並に結論〕実験

第1では温泉使用 Kirchner 培地に SCMをしたが、鏡検的に発育開始が促進している。換言すれば、静止期が短縮している。温泉水には鉄イオン等の触媒作用をなすものがあるので、これが静止期、結核菌の酵素作用を促進するならんと考え。実験第2では、菌の浸漬作用、すなわち人F菌を温泉水の Medium におけば、その後の菌の発育は生食水浸漬菌液の菌と発育同様であり、温泉水は生存力を障害しない。最後の冬の実験では37°C 1日間以上放置すれば生食水浸漬菌液も温泉浸漬菌液もその発育力に障害を来しているが、決して温泉水の障害作用ではない。温度の障害作用である。

34. 葡萄球菌培養濾液の結核菌発育促進作用

I. 鶏卵培地に於る作用

続木正大(結核予防会結研)

結核菌を培養中、他の微量の菌例えば放線菌、絲状菌、又は球菌等が混入してそのために結核菌の発育が非常に促進されることがある。放線菌及び絲状菌に就ても既に検討し、殊に放線菌に就てはその一部を本学会に報告した。今回の実験に使用した菌は *Staphylococcus albus* で鶏卵培地に結核菌培養中、迷入して結核菌の発育を非常に促進させた球菌の一つである。鶏卵培地に於る結核菌と葡萄球菌との共存培養：人型結核菌、清株 H₁ の 10⁻⁵mg を1%第一磷酸加里鶏卵培地の各5本に培養し5本はそのままし、他の5本には微量(約1/2白金耳)のこの葡萄球菌をその中央部に添加し、37°Cに8週間培養し結核菌の集落発生状態を観察した。葡萄球菌を添加したものは対照に比して1週間早く集落が現われ、24日ですでに集落は出つくしてしまい、5本の集落平均数は約16%多かった。対照では42日迄に徐々に現われ個々の集落の大きさにも相当の差が出来た。即ち、微量の葡萄球菌の共存によって、結核菌の発育が可なり促進されたことになる。葡萄球菌培養濾液の鶏卵培地上微量添加による結核菌発育促進作用：上記と同様に鶏卵培地に結核菌を培養し、これに葡萄球菌肉汁培養濾液の0.1ml宛を添加し、濾液を添加せぬ対照と4週間に亘って比較した。濾液は葡萄球菌を肉汁に37°C 2日間培養し、これを Chamberland で濾過したものである。濾液を添加したものは共存培養の場合と全く同様に、対照に比べて1週間早く集落が現われ集落数も多く大きさにも可なりの差が認められた。即ち、この葡萄球菌は結核菌の発育を促進させる物質を産生することがわかる。葡萄球菌培養濾液の加熱による影響：培養液を80°C, 30', 100°C, 30', 100°C 60', 120°C 30' 加熱して後使用し、その効力の変化を観察した結果、120°C 30' では可なりの影響を認めたが、100°C 60' 加熱ではこの濾液の効力は殆んど減退しなかった。葡萄球菌培養濾液加鶏卵培地の製造：1%第一磷酸加里鶏卵培地の原液(基汁)製造の際、蒸溜水の20%をこの培養濾液に代えた場合に最も効果的であることが

確かめられた。各種鶏卵培地に培養濾液を加えた場合の効果：小川の1%第一磷酸加里培地のみでなく、岡・片倉培地並に Löwenstein-Jensen 培地もこの濾液を添加して作ることによって、共にその性能を非常に高める事が出来た。喀痰内結核菌分離培養に於る効果：小川の3%第一磷酸加里培地を作る際にこの濾液を加えて、小川法を用いて喀痰を培養し、濾液を入れずに作った同培地と8週間に亘って比較した。濾液を加えて作ることによって小川培地の陽性率は相当高められた。すなわち喀痰培養総数106で、総陽性数37の内、20(54.1%)は両培地共に陽性で、17(45.9%)は濾液加培地にのみ陽性であった。濾液加培地に陰性で、これに加えぬ培地に陽性であったものは1例もなかった。濾液加培地の集落初発平均日数は19.5で、濾液を加えぬ場合の25.7に比べて約6日少い。濾液加培地では集落の形は相当大きく又集落数も多い。なお、一般に喀痰検査に要する6~8週間の観察期間をほぼ4週間に短縮する事が出来た。葡萄球菌培養濾液の保存：室温に6ヶ月放置してもこの濾液の効果は減退しない。葡萄球菌培養濾液の濃縮：この濾液を1/10に濃縮しても効果は変わらない。従って培地に濾液を添加して作る際、この濃縮濾液を使用すれば、培地全体の1%以下の量で足りることになる。〔総括〕この葡萄球菌培養濾液を添加することによって各種鶏卵培地に於る結核菌の発育は可なり促進される。すなわち集落発現時期が早くなり、発育期間が短縮され、個々の集落は相当(直径は約3~4倍)大きくなり集落数は増加する。喀痰検査に於ては、この濾液を添加することによって集落初発平均日数は6日減少し、従来の観察日数6~8週間を約4週間に短縮することが出来た。又例数が少いので断定的なことはいえないが、その陽性率を殆んど倍加することが出来た。なお液体培地に於る効果に就ては次の機会に報告したい。今後勿論、この濾液から有効物質を分離せねばならない。以上述べた方法が飛躍的に結核菌の発育を旺盛にするものでないことは無論である。結核菌の迅速培養法、殊に微量排菌者の早期診断、迅速耐性検査法等に役立つ培地の出現が切望されている現在、この様な方法が、ただ、いささか新しい方向の示唆ともなれば幸である。

〔質問〕 中川洋(久留米大細菌)

①葡萄球菌は、特殊の株を使用されたか。②濾液を採られる場合の条件について。③濾液中の発育促進性の本態についてどの様に考えられているか。

〔回答〕 ①この菌は特殊なものではなく、他にもこの程度に結核菌の発育を促進させる菌株は可なりある。②肉汁培養期間は2日間としその培養液を Chamberland で濾過した。③この様な作用の本態に就いては今後検討するつもりである。

35. 人型結核菌発育促進物質に関する研究

山田弘三・川口幸平・松島康之（名大分院内科）

人型結核菌は窒素源として、アミノ酸又はアムモニウム塩、炭素源としてグリセリン又は葡萄糖、その他無機元素として P, K, Mg, Fe よりなる合成培地に発育し長期に亘って継代可能である。しかし 1~2 週後、漸く相当の発育を見る程度で、これを何らかの物質を加えることにより、発育を促進せんとする試みは極めて多い。それらの中、人、牛、兎等の血清又は血漿が先ず挙げられる。最近 Youmans は Proskauer-Beck 培地で generation time が 20.5 時間の H₃₇Rv 株は牛血清又は Proantithrombin の添加により 14.4 時間に短縮すると報じた。更に Frisch は人赤血球発育促進作用の著しいことを述べ、本態はヘモグロビンにあるとしている。一方貝田は牛の臓器エキスの内、肺、腎、副睾丸等に促進作用を認め、最近山田は鶏卵培地の表面を Trypsin で処理すると 3~5 日でコロニーの発現を見るという。我々も多くの物質について人型結核菌発育促進作用を検したので報告する。〔実験方法〕青山 B, H₃₇Rv 株を用い培地はソートン、キルヒナー、小川培地を用いた。一部では鳥型菌獣調株について、ソートン寒天を用いて実験した。〔実験成績〕1) ビタミン: B₁, B₂, ピリドキシン, ピリドキサル, ピリドキサシン, ビオチン, パントテン酸 Ca, B₁₂, 葉酸, ビタミン P, ニコチン酸及びアミド yeast extract を 100~0.01γ/cc の間で小川氏培地に加え人型菌に対する影響を見たが、被験濃度では認むべき変化を見なかった。yeast extract は 40~2% 間で行った。2) 二, 三, 蛋白質の Trypsin 処理について: 人及び家兎の血清及びヘモグロビンにつきトリプシン処理を行った。すなわち 2~3 cc の血清にトリプシン 5000~10,000 単位を含む同量の pH7.1 緩衝液を加え、一夜 37°C に放置後ソートン培地に加え (20, 10, 2%) 56°C, 30' 加熱後培養した。結果は殆ど影響ないが、やや血清の発育促進作用の減弱を見た。肺結核患者血清の 2 例に於て、トリプシン処理血清のみ 3 週後も殆ど発育を見ないものがあるが、これが結核症と何等かの関係を有するか否か不明である。次に赤血球を三回洗滌後蒸留水 10 倍量で溶血せしめ血清と同様処理したが、Trypsin により変化を受けず、10~0.01% の間で極めてよく人型菌の発育を促進する。なおトリプシンそのものは培地に入れても (400~4 単位/cc) トリプシン液と菌を混合し、一定時間毎に鶏卵培地にうえてコロニーを数えても全く変化を認めない。3) 臓器抽出液: 海猿、白鼠、家兎の肺、肝、脾、腎、脳、副腎、甲状腺、胸腺、辜丸、副辜丸を約 10 倍の生理的食塩水で homogenate し、一夜氷室放置後、シヤンペランで濾過し、20~2% 割にソートン培地に入れた。各動物の肺、副辜丸は相当促進的に、脳はやや促進的である。辜丸、肝、脾、副腎はやや抑制する。白鼠及び家兎の胸腺抽出液はそれぞれ 10 及び 20% 添加で殆ど

結核菌の発育を見ない。肺の促進作用は血清より劣り、トリプシンにより影響を受けない。なお人扁桃腺は殆ど影響ない。牛リンパ腺の如く抑制的ではない。4) ホルモン: 先ず市販のヒポホルン、プレホルモン、ロバール、オバホルモン、エナルモン、アドレナリン、インシュリンの中プレホルモンとロバールの高單位に於てやや抑制するのみで他は影響しない。次に Cortisone は人型菌を 100γ/cc 以上で阻止するが鳥型菌は 1000γ/cc まで無影響、Hydrocortisone は 10γ/cc 以下に於て両型共やや発育良好である。5) 犬の胸管リンパについて: P. Roche, M. Cummings 及び Max Lurie は白鼠及び家兎をコーチゾンで処置すると病変高度なることを報告している。この成績を 4) の Cortisone の結果から説明することは困難であり、Cortisone の注射により生体内で菌の増殖を促す何等かの物質の遊離することが想像される。よって我々は犬を用い Cortisone 投与の前後に亘り、血清及び胸管リンパをとり、結核菌発育に及ぼす影響を鑑た。今回は先ず正常犬のリンパ液について報告する。20~10% 添加により人型菌の発育を促進するが、血清よりその程度は劣る。正常犬に於ては Cortisone 50 mg 皮下注射後に取った 1~3 時間のリンパは殆ど変化を示さない。次いで結核菌接種の犬についても同じ実験を進めている。〔結論〕1) 人の血清及びヘモグロビンは極めてよく人型菌の発育を促進し、血清は Trypsin により促進作用の低下を来すがヘモグロビンは変化を受けない。2) カゼイン水解物は 0.5% のアスパラギンの存在の下にのみ人型菌の発育を促進する。3) ビタミン及びホルモンの類で明かに発育を促進すると思われるものはない。4) 海猿、家兎、白鼠の肺、副辜丸は人型菌の発育を良好ならしめる。5) 犬の胸管リンパは血清よりは弱いが、発育促進作用を有する。正常犬に於て Cortisone 50 mg 注射後このリンパの発育促進作用は変化を示さなかった。

〔質問・追加〕中川洋（久留米大細菌）

モルモット肺臓含塩水滲出液の結核菌発育促進性の本態についてどのようにお考えか。私共はモルモット肺臓抽出物中の磷脂質が結核菌の発育を促進することを 4 月 20 日の細菌学会で報告していることを追加する。

〔回答〕肺 homogenate の各分層について発育促進作用を研究する予定である。

〔質問〕松尾吉恭（広大細菌）

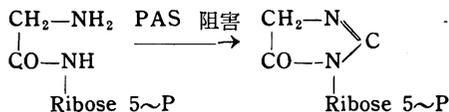
Sauton 液を用いてその表面発育を以て発育程度を比較することは、当初移植菌量の Control が極めて困難であることを経験しているので、演者に何か良い方法があったら御教示願いたい。

〔回答〕1 白金耳皿の菌膜を移植しているだけである。

36. 結核菌に於ける Purine 生合成と PAS の制菌機作

勝沼信彦・石川栄治・渡会一男（名大生化学・国療大府荘研究室）

PAS 部分阻害条件下に 4-amino 5-imidazol carboxamide (AICA) 系化合物が蓄積すること、Purine 系化合物で PAS の制菌作用が減弱することから、PAS は Purine の生合成を Purine 環閉鎖の所で阻害することを述べた。又その機作は P-amino benzoic acid (PABA) P-amino benzoyl glutamate (PAGE) 葉酸で著明に PAS 制菌力の減弱を見る所から、Purine 閉環助酵素の主要成分である葉酸系化合物の合成を PABA との拮抗に於て阻害するからであろうと推論した。その後(1)これ等増殖拮抗物質で AICA の蓄積が減少すること(2)新たに PAS 阻害下に Glycine amide ribotid^e (GAR) が蓄積することを確かめ PAS の第一阻害点が imidazol 閉環阻止の所にあることを知った。(3) AICA 及び imidazol 閉環反応の助酵素の本態が、Leucovorin と ATP から酵素的に誘導される新 Nucleotide_e らしいことを明らかにした。(1)拮抗物質による AICA 蓄積の減少: Arabinose と Glycine の入った培地に PAS 1.25mg/cc 含有させ鳥型菌をうえ 3 日培養で培養濾液につき、non acetyltable diazotizable amine として定量した。これ等 PAS への拮抗物質により増殖の prevente が出来ると同時に AICA の蓄積も減少することがわかった。(2) PAS 阻害による Glycine amide ribotide の蓄積: PAS 1 mg/cc 含有 A-G 培地、培養濾液をイオン交換樹脂 Dowex 1 (200~400mesch. h=10) に吸着させ、0.05 M ammonium formate で elute すると Ninhydrin 陽性、有機磷、Ribose を持った化合物を得る。このものはペーパーで単一物質で、水解し分析すると Glycine と Ribose と有機磷が 1 対 1 対 1 の割合に結合したもので Glycine amide ribotide であることを知った。有機磷の結合位置を決定するために過沃素酸分解及び硼酸による Böseken 反応をペーパー上で行ったところ、著明に Rf の減少する所から Ribose の 2', 3' には有機磷は結合していない。すなわち、Ribose-5 有機磷である。PAS は第一に Glycine



amide ribotide を閉環してイミダゾールリボチッドにする所を阻害し、この阻害をのがれた一部が AICA まで合成され再び第二作用点として AICA の閉環が阻止されるものと思われる。Glycine amide ribotide は Purine 前駆物質として Greenberg により酵素的に合成されたものであるが、薬物阻害下にこの化合物が蓄積することを捕捉したのはスルホン剤を通じても初めてである。(3) PAS の制菌力に最もよく拮抗する

Leucovorin 誘導体の捕捉: Greenberg 及び Peabody が最近 Leucovorin の肝ホモジネイトを作用させて AICA 閉環助酵素として非常に活性の強い化合物が出来ると速報している。そこで我々も PAS の拮抗で見た場合葉酸より Leucovorin がはるかに拮抗能が良いことを確かめたので、Leucovorin より更に拮抗能のよいものが Leucovorin の酵素的誘導物の中にありはしないか実験した。Greenberg 等の報告は速報中に極めて簡単に記載してあるのみなので、我々の捕捉したものと同一かどうか知り得ぬが、我々が捕捉したのは次の如きものである。化学合成 Leucovorin と ATP を鼠肝で 30°C 30 分間作用させ 100°C 5 分で除蛋白し、減圧濃縮してペーパーで醋酸と Butanol 系で展開する螢光を持った Leucovorin と異なるスポットをかなり大量に得る。これの吸収スペクトルを見ると 255m μ と 365m μ に強い吸収極大を有する化合物で、0.5N 塩酸で弱い加水分解をすると容易に Leucovorin (吸収極大 280m μ) を出し、Ribose と有機磷を有し、強加水分解で Adenine を出す。一応 Leucovorin と Adenine からなる Pinucleotide であろうと推察している。現在結晶化を行いつつある。この構造は結晶化の後に確定報告したい。この化合物は強い PAS への拮抗作用がある。又 Leucovorin の growth factor としての activity も強い事を知った。従って結核菌に於て AICA 経由の Purine 生合成の場合この formyl 基転位の助酵素となっているのはこの新 Leucovorin 誘導体であるものと考えらる。

37. 揮発性物質の結核菌発育阻止作用に関する実験的研究

塩沢精一（新潟市社会事業協会信楽園・新大桂内科）

揮発瓦斯の結核菌発育阻止に関する実験に際しては、瓦斯を充分培地中に作用させると同時に、菌培養の諸条件を充分満足させる事が必要である。今迄遠藤他数氏の報告があるが、その方法は必しもこの条件に適合せず、且阻止力の強弱に就ての系統的実験はない。唯徳臣の培地内小円筒挿入法及び稀釈法はほぼこの目的に適合する。私は氏の法を用いキシロール等 19 種に就き系統的に検索した。即ち O.K. 培地の凝水上に小円筒を挿入し、その上部の培地中に、型の如く作成せる菌浮游液の 2 白金耳を塗擦し、次で予め菌発育に影響無き事を確めたゴマ油、乳糖又は蒸留水で 2 倍から 16 倍迄（フォルマリンは別に稀釈した）倍數稀釈した被験物質を前記小円筒に注入し、孵卵器に収め、菌の初発日数及び発育状態を 6 週間以上観察した。その結果菌発生を全く認めないものを完全阻止、菌は発育するが対照に比し初発日数遅延し、又は終末迄の発育状態の劣るものを不完全阻止、対照と同様なものを阻止力無しとすれば成績は次の如くである。人型菌 F 株、H₃₇Rv 株及び牛型菌に対する阻止力はほ

ば同様で、フォルマリンは50倍稀釈迄完阻、400倍稀釈でも不完阻。メチル及びエチルアルコールは4倍迄完阻、8倍迄不完阻。グアヤコールは2〜4倍迄完阻、8倍迄不完阻。キシロール、ユーカリ油、ミルトールは2倍完阻、4倍迄不完阻。メンタ油、トルオールは2倍迄完阻、4〜8倍迄不完阻。エーテル、ベンゼン、ベルガモット油、ラベンデル油は概ね原液のみ完阻、4倍迄不完阻。テレピン油は原液或は2倍迄完阻、2〜4倍迄不完阻。メントールは原液から16倍迄、カンフルは原液から8倍迄、チモール、石油は2倍迄不完阻のみを示した。鳥型菌に対しては、フォルマリンは16倍迄完阻、64倍でも不完阻。エチルアルコールは4倍迄完阻。メチルアルコールは2倍迄完阻、4倍迄不完阻。エーテル、トルオールは原液のみ完阻、4倍迄不完阻。キシロール、ユーカリ油、ミルトール、テレピン油は原液のみ完阻、2倍迄不完阻。グアヤコール、ベンゼン、ベルガモット油、ラベンデル油は2倍迄、メンタ油、石油は原液が不完阻のみを示したがメントール、カンフル、チモールは阻止力を有しない。冷動型菌に対しては、フォルマリンは4倍迄完阻、16倍でも不完阻。ベンゼンは原液のみ完阻、4倍迄不完阻。エチルアルコール、キシロール、トルオールは原液のみ完阻、2倍迄不完阻。メチルアルコールは原液のみ完阻。グアヤコール、エーテル、ラベンデル油は2倍迄、ユーカリ油、ミルトール、メンタ油、テレピン油、ベルガモット油は原液が不完阻のみを示したが、メントール、カンフル、チモール、石油は阻止力

を有しない。肺結核患者喀痰より分離した SM, INAH, PAS 各 100 γ /cc 耐性菌及び感性菌に対しては、フォルマリンは 50〜100 倍迄完阻、400 倍でも不完阻。メチル及びエチルアルコールは 4 倍迄完阻。メンタ油、グアヤコールは 2〜4 倍迄完阻、8 倍迄不完阻。テレピン油、キシロール、トルオール、ミルトール、ユーカリ油は 2 倍迄完阻、4 倍迄不完阻。エーテル、ベルガモット油、ラベンデル油は原液のみ完阻、4 倍迄不完阻。ベンゼンは原液のみ完阻、2 倍迄不完阻。メントールは 16 倍迄、カンフルは 8 倍、チモール、石油は 2 倍迄不完阻のみを示した。クレオソートは特異な現象を呈したので他と区別して一括すると、冷動型菌以外の菌株に対しては、何れも 4 倍迄は全く菌が発生しないか、又は一旦発生した集落が終末迄に全く消失し、8〜16倍では同様に漸次消退したが全く消失するに至らなかった。今全く消失したものを完阻とすれば、人型、牛型、感性菌及び各耐性菌に対しては、4 倍迄完阻、16 倍迄不完阻。鳥型菌に対しては 2 倍迄完阻。8 倍迄不完阻を示す。但冷動型菌に対しては原液が不完阻を示すのみで、集落の消退は認められない。以上の成績を総括すると、①何れの菌株に対しても菌発育を促進したものは認められない。②クレオソートは他の被験物質と異り、一旦発生した集落が漸次消退乃至消失する特異な現象を呈したが、斯る報告は現在迄見当らない。③人型 F 株、H₃₇Rv 株及び牛型菌に対する阻止力は略々同様で、之をその強さの順に羅列すれば次の如くである。

キシロール エーテル

メチルアルコール ユーカリ油 ベンゼン

フォルマリン ≫ クレオソート > エチルアルコール > ミルトール > ベルガモット油 > メントール > チモール
カンフル > 石油

グアヤコール メンタ油 ラベンデル油

トルオール テレピン油

④ SM, INAH, PAS 各 100 γ /cc 耐性菌に対する阻止作用に関する報告はないが、私の成績では、感性菌と各耐性菌との間及び各耐性菌相互の間に格別の差は認められず、且その阻止力は前記人型及び牛型菌に対する場合とほぼ同様であった。⑤鳥型菌或は非病原性抗酸性菌に就ての報告は見当らないが、鳥型菌及び冷動型結核菌に就ての私の成績では、上記被験瓦斯に対する之等の菌の抵抗は、人型及び牛型菌よりも強く、就中冷動型菌に於て著しい。

38. 肺結核患者の尿中結核菌排泄状態について

近藤弘・伊藤善朗(国療天竜荘一荘長中村健治)・水之江公英(北里研究所)

国立療養所天竜荘入荘肺結核患者 782 例について、尿中結核菌の検出を試み、肺結核との関係及び分離菌の各種抗結核剤に対する抵抗性を調査し若干の知見を得た。尿の培養に就てはカテーテルを用いず綿栓を施した滅菌

採尿管に早朝第 1 回尿を採取したものを 3000 回転 20 分間遠心し、その沈渣に 4% 硫酸を適宜加えて 30 分間放置し、更に 10 分間遠心して、その沈渣を岡・片倉培地に塗沫培養した。尿一般検査は型の如く、また同日早朝喀痰の培養も原法の前処置で同じく岡・片倉培地を用いて併せ施行した。次いで尿中結核菌の陽性をみたものは、喀痰よりの分離菌と共に抗結核剤に対する抵抗性検査を岡・片倉培地で間接法に依つて行つた。尙尿培養抗酸性菌陽性に就てはプライス氏法を併せ行つて次の実験結果を得た。①天竜荘入荘肺結核患者 782 例の尿中より 3.8% (29 例) に結核菌を証明した。この中には臨床的に既に腎結核症の診断のついた例 4 例及び死後剖検に依り、腎結核兼前立腺結核を認めた例 1 例が含まれている。②尿中結核菌陽性例の臨床所見との関係では、喀痰中結核菌陽性例が 69.0% (29 例中 20 例)、赤沈促進例が 69.0% (29 例中 20 例)、胸部レ線所見で空洞の認められる例 58.6% (29

例中17例), 病巣の広さ(アメリカ結核臨床部会の分類に従う)の中等度以上の例72.4%(29例中21例)で, 肺結核の軽症例より中等症以上に多く認められた。③尿の所見では蛋白陽性例が24.2%(29例中7例)にみられたのみで, 他は正常尿と殆ど変りがなかつた。④尿, 喀痰よりの分離菌の各種抗結核剤に対する抵抗性は, SM では尿菌, 喀痰菌共3例宛, PAS では喀痰菌に1例, 尿菌に3例, INAH では共に2例であつて, SM, INAH では大体両者同程度に, PAS では尿菌に高率に抵抗性菌が認められた。同一患者の尿菌と喀痰菌との各種抗結核剤に対する抵抗性に差のあるものは8例で, その中の1例(臨床的に既に腎結核症の診断のついている例)の尿菌は3種抗結核剤に抵抗性を有するにかかわらず, 喀痰菌はどの抗結核剤に対しても耐性のなかつた興味ある例であつた。

39. 人工放射性同位元素 S^{35} 標識づき BCG 及び人型結核菌による実験的研究

菅野巖・八坂英一郎・相沢慎吉・高橋義郎・進藤三郎(東北大抗研)

われわれは, 人工放射性同位元素 S^{35} をソートン液体培地に $MgSO_4$ の形で含ませ, S^{35} 標識づき BCG, あるいは, 人型結核菌をつくり免疫実験をおこない, またそのさい菌の発育する状況や生菌数などを調べたので, そのうちの二, 三のものについて報告する。まず, ソートン培養液中に含まれている S^{35} の量のちがひにより, 人型結核菌の発育する状態をみると, S^{35} の含まれている量のかかり多い場合には, これを全く含まないか, あるいは, ごく僅かしか含まない培地における発育と比較して, その発育する速度が大であつた。また, ソートン液体培地のなかの S^{35} の含有量のちがひによる日本株 BCG の収穫菌量や生菌数をみると, S^{35} を含んでいる培地では, それを含まない培地よりも, 収穫菌量や生菌数が多かつた。これは, 日, 仏, 米の3菌株を比較した場合にも同様な結果をえた。次に, ツベルクリン反応の状態をしらべてみると, 日, 仏, 米の3株とも S^{35} を含んだ放射能群が, それを含まない群とくらべて, 一般にツベルクリン・アレルギーが強くあらわれて, その状態を持続している。これは, 特に仏国株において著しかつた。また, 体重の消長をみると, S^{35} を含む放射能群は, 対照群と比較して, いずれの菌株においても, 体重の著しい増加を認めた。次に, 日, 仏, 米の3株のBCGを海猿の右側大腿皮下に接種し, 週をおつて, いろいろの臓器の中の S^{35} の放射能の強さを比較してみた。肺臓についてみると, 3菌株とも, 2週目において最も強く, 特にこれは, 仏国株に著しく, その後は漸次に減少するのを認めた。そして, 3菌株間の強さを比較すると週によりその差異はいろいろであつた。脾, 肝, 腎臓についても同様のことがいわれる。なお, 日, 仏, 米の3

株の BCG を用いて, S^{35} を含むものと含まないものについて免疫力を比較してみたが, 著しい差は認めなかつた。これを要するに, S^{35} をかなり多く含むソートン培地では, 一般に結核菌の発育する速度が早いようである。BCG 株についてみると, 培地に S^{35} を含んでいるときには, 収穫菌量や生菌数も多いようである。また, S^{35} を含んでいる BCG も普通の BCG も免疫力については著しい差はない。しかし, S^{35} を含んだ BCG 接種群ではツベルクリン・アレルギーの出方も強く, その状態を持続している。また, 体重の増加も大である。 S^{35} を含む BCG を皮下に接種した海猿のいろいろの臓器の中の放射能の強さをみると, 2週目に最も強く, 次に初週, 4週, 6週の時であった。

〔質問〕 谷淳吉(国療刀根山病)

①培地中の non-label の $Mg SO_4$ の濃度の変化によって菌中に incorporate される S^{35} の activity はどの程度に変わるか。② labeled cell と non-labeled cell との間の発育状況及び生菌数からみた相違と, S^{35} の label の程度との間には相関関係が見出されるか。③生菌数の間に差があるように云われたが, 170×10^5 130×10^5 程度で違いがあると云えるか。④ labeled BCG 注入後の S^{35} の臓器分布の data の数値は, どのような表現の仕方か。(例えば, 臓器の一定量の放射能と云う意味の数値とか云うような意味か) ⑤以上のような種々の性質の違いと云うものは β 線による影響とお考えになつて居られるわけか。

〔回答〕

①ソートン液体培地中に含まれる S^{35} の含有量が多ければ, 従つて $Mg SO_4$ の量が多ければ, 結核菌あるいは BCG の菌体内にとられる S^{35} の量も多く, これはペーパークロマトグラフによって検討すると, メチオニン, チスチンの形でとられ, とくにチスチンの量が多いようである。②このことについては, 精しく検討を加えておらなかつた。③具体的に測定するにあつて, われわれの場合, 若干差異あるように思つた。しかし, これは統計学的に吟味されるべきだと考える。④申されるように, 各臓器の一定量についての放射能という意味である。⑤恐らく β 線の影響が大きいのではないかと思うがいまのところ何とも申し上げられない。

〔質問〕 山村好弘(国療刀根山病)

①肺臓において, 放射能 (c.p.m.) が, 2週目の方が1週目より高いのは, どのように考えられるか。少くとも, 放射能は時間と共に, 減じる事はあつても, 増えることはないと考えられるが。② S^{35} を Sauton 培地に加えた時, どの位の量 ($\mu\text{C}/\text{cc}$) を加えた時, 結核菌にどの位の放射能をもつようになるか。③測定物の放射能の自己吸収, 自然減衰値, 等について考慮されておられるか。

〔回答〕① S⁸⁵ 標識づき BCG を海狸の皮下に注射し、一定の期日後、肺、肝、脾、腎などの中の S⁸⁵ の放射能の強さを測定すると、2週目に最強であるのは、測定の結果、事実そのようになったので、これは、菌が動物体内に接種されると、2週目頃に最もよく、こうした臓器に集ってくるのではないと思われる。勿論、この中には、生菌もあるだろうし、死菌もあることと思う。たんに S⁸⁵ を含む MgSO₄ を注射したような場合には、こうしたことは認められず、時間とともに減弱して来る。②このことについても実験をおこなったが、手許に具体的にその数値を持合せしていないので、申し上げかねる。③測定値については、勿論、自然減衰値、その他を考慮し、それらの値を除去したものについて、その測定物の値として成績を比較した。

40. 微排結核菌の毒力について

権藤祐一・彌永竜環・永井喬（国病筑紫）

微量排菌者の排菌の実態に就いては既に数回に亘って報告した。又その予後に就いては幾多の報告があり、作業療法共同研究班の業績並びに我々の調査では、毎月1回の培養で稀に $\frac{20}{2}$ コ以下のコロニーを示す程度の間歇的培養陽性者では、常に培養陰性のもと大して予後の差が無い。又かかる微排者の連続培養に於ける集落初発時期とコロニー数の関係を調べると、最終判定で(+)以下(実際は5コ以下のもの)が多く、然も7~8週以後に初めて菌を証明するものが多数を占める。かかる見地から我々は微排結核菌の毒力を検討中であるが現在迄の成績を報告する。供試菌株並びに実験方法：(1)毎月1回以上の臨床的定期喀痰培養検査に於ける間歇的培養陽性者のうち、60日間の連続培養の結果並びにレ線所見を含む一般所見を吟味して厳選した症例の20株を我々は最微排株とした。(2)厳選された最微排で無く、毎月1回以上の臨床的定期培養検査だけで得られた間歇的陽性者の微排菌約40株を臨床微排株と仮称し実験に供した。(3)対照株として人型 F, H₃₇Rv, H₂ と塗抹陽性者の菌株約10株を用いた。実験を第1次及び第2次に分け、第1次実験に於て先ず臨床微排株の毒力を検討し、第2次実験で最微排株の毒力を験した。なお供試菌株に就いては継代数及び保存期間をほぼ一定にした。予備実験として供試せる殆んど全株に就いて1乃至数回に亘り Dubos 等の提唱せる Neutralred 呈色反応、杉山氏の Neutralred 超生体染色法による今村氏等の白血球生存期間、並びにいわゆる Cord 形成能を験した。次に動物実験に於て臨床微排株及び最微排株各々より6~7株宛を選び、対照群より1~7株を使用し、マウスを用いて尾静脈より菌量1mg, 0.1mg, 0.01mg を接種し、各菌量別に2~3匹宛の群に分ち、生存日数、5週後の剖検による、肺脾臓の肉眼的病変並びに肺肝を主として、Homogenize 法により小川氏1%KH₂PO₄ 培地を用いて臓器培養を行った。

なお動物実験に供試せる菌株の選出に就いては、予備実験に於て中等度の毒力を示すと思われるものを主とし、強毒及び弱毒と思われるものを1~2株宛選んでいる。なお又動物実験に供した最微排7株と対照7株に就いては、マウスに接種せる同一菌に就いて予備実験たる Cord 形成能、白血球生存期間を験し、又その菌液を岡・片倉培地に培養し、接種菌が死滅していない事を確めた。〔実験成績〕(1) Neutralred 呈色反応：第1次及び第2次実験に於ける成績を総括すると殆んど臨床微排群、最微排群とも対照群との間に有意な差は認められない。(2) Cord 形成能：Cord 形成能に関しては我々は Cord 指数
$$\left[\frac{\text{I型} \times 4 + \text{II型} \times 3 + \text{III型} \times 2 + \text{IV型} \times 1}{\text{I型} + \text{II型} + \text{III型} + \text{IV型}} \right]$$
なるものを定めたが、これによると指数4に近い程強毒であることを示すことになる。その成績では対照群より臨床微排群並に最微排群の方がやや弱毒の如く思われる。(3) 白血球生存期間 Neutralred 超生体染色による白血球生存期間に関しても、我々は不染指数
$$\left[\frac{(\text{白血球} + \text{菌液}) \text{の} \text{不染率}}{\text{白血球の} \text{不染率}} \right]$$
なるものを定めたのであるが、最微排群が弱毒のようである。(4) 動物実験成績：(イ) 第1次動物実験に於ける臨床微排群と対照群との間には、死亡数には大差無いが、死亡例に於ける生存日数は対照群の方に短いものが多い。第2次動物実験に於ける最微排群と対照群の間では最微排群の方に死亡数は多いが、死亡例の生存日数に関しては大差は無いようである。(ロ) 肉眼的臓器病変、小川氏の病変判定規準に従い、肺及び脾に於ける病変を比較したが、肺脾いずれに於ても臨床微排群最微排群とも対照群との間に総括的に特別有異な差を認めなかった。(ハ) 臓器培養成績、培養後5~6週で判定した。第1次動物実験では肺を主とした臓器培養を行った結果、菌量0.1mg, 0.01mg 接種群に於てかえって臨床微排群の方にコロニー(+)以上のものを多く認めた。第2次動物実験では肺及び肝に就いて臓器培養を行ったが、肺肝いずれに於ても最微排群と対照群との間に特別な差を認めなかった。なお上記第2次動物実験に供した同一菌に於ける予備実験たる Cord 形成能及び白血球生存期間を験したが大差は無かった。〔結論〕以上我々は微排結核菌の毒力を検討したが予備実験に於ける成績では微排群特に最微排群がやや弱毒と思われるが推計学的には有異な差では無い。動物実験に於ては二三の僅かな差はあったが、肉眼的所見及び臓器培養成績に於て特に比較され得る程の有意な差は認められず、接種同一菌に於ける予備実験でも大差無く、総括的に微排結核菌が弱毒であると限らず、毒力に於ける特異性を見出し得なかった。

41. 結核菌毒素に関する研究（特に小室法の応用について予報）

疋田善平（国病京都結研）

I. 前言：われわれは次のような考えを持っている。即ち結核症なるものは、所謂結核菌毒素により惹起され

るものなりと。然しここに結核菌毒素とは結核菌に由来するすべての毒性物質で、菌体内外毒素は無論のこと一部二次的毒性物質をも含む広義のものである。この私等の云う結核菌毒素があれば、生結核菌のない結核症を作る事が可能である。然るに結核菌の病原性は明なるに、その毒力(われわれの云う毒素)を測定する物差は何一つない。もしこの物差があれば、菌学的発展と共に診断治療予防及び予後判定に一大威力を加えるが、毒素の本態が不明な今日、先ず毒素の生体内作用を見究めるべく、生体内での毒素と菌の分離を考える。即ち結核菌の増殖する同一生体内で菌のみを隔離出来得れば丁度デフテリーや破傷風が感染局所以外に無菌の強い変化を起す如く、結核菌が局所にのみ増殖し、局所以外に相当の変化を実験的に起す事が出来れば、われわれの云う無菌の結核症を見ることも一応可能であり、その病態変化は結核菌毒素の一物差と成り得る。故に菌のみを阻止し、他のすべてのものを容易に通過さす膜を探求中の折柄、京大結研辻助教の所で、目的は異なるが粗製硫酸紙が血清蛋白を通過さすことを報告されたので、この硫酸紙を以て2~3 基礎的に *in vitro* の実験を行ったので予報とし、諸先生方の御批判を仰ぎ、今後の研究方向への御指導を戴きたい。II〔実験方法及実験成績〕小室は10mm³のガラス管の両端を硫酸紙にて封したもので、ゴム輪で固定する。この小室内に *E coli* O₃₅ 亦 *Staph. aureus* 寺島を入れ、該小室をペプトン水に投入し、ペプトン水の混濁により菌濾出判定を行うに、硫酸紙、濾紙に水バン塗布は菌濾出し、セロファン、硫酸紙に水バン塗布、硫酸紙+3%寒天膜の3種は大体30~50%の成功率あるも、これら膜中デフテリートキソイドを滲出可能なものは硫酸紙+3%寒天膜のみである(沈降反応によりトキソイドの通過性は検査する)。即ち硫酸紙+3%寒天膜は菌を阻止し、トキソイドを通過さす膜である事を知った。依って該膜小室に青山 B 1mg/cc 0.5cc 注入、モルモット腹腔内挿入したが、ガラスと膜面との接触部より菌濾出し失敗した。故に数次の改良工夫により、鍋型レヂン製小室により *in vitro* にて90%以上の成功率を見るに至り、目下動物実験中である。III.〔考察及結言〕われわれは結核症は結核菌毒素により惹起されるとの考えより、無結核菌の結核症を作り、同時に結核菌毒素測定方法の発見により菌毒力をより理想的に知りうるものと考え。然るに結核症は生体と結核菌との相乗積であるのに、一般には菌より生体側を重視する傾向がある。菌側は単に数量的面以外殆ど問題にされずも、われわれは逆に病原菌側により一層重要性を認めるため、現在一般に結核菌毒力検査と称して行う方法には根本的な疑義がある。無論無関係ではなく或一面に於ての毒力を表現はしても、真の意味の毒力とは一致しないものと考え。即ち現在法は単に菌の生体内増殖能力測定検査法にし

て、菌株毒力の強さとは異ったものとする。勿論、単個菌または単位活性時に同一単位数の毒力の場合は菌数と毒力とは比例するが、必ずしもすべての菌株が同一単位数の毒力とは考えられず、極端な場合を考えれば、菌の増殖は極めて旺盛なるも生体に何等害することなく、むしろ有役な事の多い共有の立場の菌が存在しても不思議ではなからう。かく考える時、今回報告した小室法は菌毒力を知るのに、より理想に近い方法であると考え。然し現段階の粗製硫酸紙+3%寒天膜が菌のみを阻止し、他のすべての物を容易に通過する理想の膜とは考え難いが、L型及び濾過型の有する大腸菌を少くとも *in vitro* の実験では止め、デフテリー毒素を通過さす膜を発見したことは、一步目的に接近したものと信じたい。然しこの膜が果してわれわれの云う毒素を如何程通過しうるかは未定であり、又 *in vivo* での欠点も充分認められる故に、より目的にかなった理想的の膜を追求し、人型結核菌の真の意味の毒力判定の決定版を発見したい考えである。以上これを要するに、一定条件の膜を用いて結核菌毒素の判定を行う基礎的実験を行ったので予報的に報告し、特にわれわれの考え方に対し御批判御指導が戴ければ結構と存ずる。

〔追加〕 辻周介(京大結研)

菌の毒力とは菌と宿主との相関関係によって説明せらる可きもので、単に菌の側の毒素なるものを取上げるだけでは普遍的な説明とはならないと考える。われわれの年来の研究によれば、菌の生体内増殖能がよくその菌の毒力と平行することを認めて来た。

〔回答〕

見解の相違と思う。

42. *Vole Bacillus* の天竺鼠に対する Virulence について

室橋豊穂・関又蔵・吉田幸之助(予研結核)

Vole Bacillus として現在われわれは D₁₅ と oV との2株を保存している。D₁₅ に就ては既に屢々報告を行って来たが、oV に就てはこれが初めての報告である。oV は D₁₅ よりも Virulence が低いということで、現在イギリスで人体接種に試用されている菌株である。これら2株の Virulence を検討する為に、天竺鼠静脈内に接種した後、時日を追って剖検し、肉眼的所見の比較と併せて、臓器10mg中の生菌単位数を定量培養によって追求した。oV はグリセリン含有培地には殆ど発育しえず、又 D₁₅ はグリセリンの有無に拘はらず、略々同程度に発育しうるので、臓器から接種菌を還元培養するに当り、この2株に対してはグリセリンを含まぬ小川培地を用い、対照としての BCG 或は H₂ に対しては通常の小川培地を用いた。定量培養の成績は、後者では培養4週後を以て判定したが、*Vole Bacillus* は発育速度が甚だ遅い為に、10~12週を以て判定した。〔実験 I〕D₁₅, oV

及び BCG の何れも 1mg/0.2 cc を足背静脈に注射した。D₁₅ は Sauton 2 代の 3 週培養菌膜から、BCG は Sauton 2 代 10 日培養の菌膜から夫々菌液を作ったが、oV のみはグリセリンを含まぬ小川培地上の 3 週目の集落を掻き取って菌液とした。注射後、24 時、3 日、7 日 3 週、5 週、10 週、15 週及び 20 週目に夫々 1 群 2 疋宛を剖検し、肉眼的所見を観察した。Vole Bacillus 群の脾腫大は 3 週以後著明で、米糠様の微細な結核性病変を無数に生じていたが、BCG 群では接種生菌数が約 10 倍以上であるに拘らず、その程度は軽微であった。然し 10 週目には、Vole Bacillus 群でも脾腫は殆ど消失し、肉眼的結核性変化を著しく減じた。臓器内菌数の消長をみると、BCG 群では接種菌量に比例して定着菌数も多いが、明かな増殖を示さず、3 週以後急速に減少するのに対して、Vole Bacillus 群では 3 週目迄やや菌数を増加し、5 週頃迄相当高い菌数を維持している。D₁₅ 群の 1 疋では 10 週以後にもなお 100 個程度の菌数を脾において示した。D₁₅ と oV との間には余り著明な差は見られないが、体内残存は D₁₅ の方がやや長いようである。〔実験 II〕oV の Virulence を検討する為に、菌量を 2 種にして同様な実験を行った。接種生菌数は大量群では 96.5×10^8 、少量群ではその 1/10 である。ツ反応の陽転は大量群に早く現われ、3～5 週における脾腫も著明で結核性変化も強く認められたが、10 週目に至れば、少量群と同様にこれ等の変化は著しく軽減した。臓器内生菌数の消長をみると、少量群では 24 時間目の定着菌数に比して 2 週迄に著明な菌数増加を示すが、菌の消失をみると大量群に比して急速であった。両群共菌数増加の極値は 3 週目に当り、5 週以後は明かに菌数を減じて、10 週目にはせいぜい数個を認めうるにすぎない。〔実験 III〕以上 2 つの実験から、天竺艸体内における Vole Bacillus の消長が BCG のそれとは明かに区別しうることがわかったので、次に人型強毒菌 H₂ との比較を行った。実験に先立って 24 時間目の定着菌数を予想しうる様に、D₁₅ 及び H₂ は共に凍結乾燥菌を用いたが、oV のみは増菌が極めて困難な為に、前 2 実験同様にグリセリンを含まぬ小川培地上の培養を用いねばならなかった。各菌株共 1 疋宛接種量は 1mg/0.4cc である。剖検は接種後 24 時 2 週、4 週、8 週及び 10 週にそれぞれ 1 群 2 疋 (2 週のみ 3 疋) 宛行った。H₂ 群では、接種生菌数の oV 群は勿論、ほぼ 3 倍量の D₁₅ 群に比しても明かに早期 (2 週) にツ反応は陽転し、臓器の変化も亦 10 週に至る迄極めて高度であった。Vole Bacillus 群の肉眼的臓器所見は前 2 実験とはほぼ同様で、2～4 週目には脾腫と米糠様結核性変化と認められるが、8 週以後それ等の変化は明かに軽減している。又臓器内生菌数の消長をみると、H₂ 群では 2 週目迄菌数の増加は極めて著明で、接種菌数の最も多い D₁₅ 群を凌駕し、且つ 8 週以後においてもなお数

百個の菌を含んでいるのに対して、Vole Bacillus 群では、8 週以後に 1～2 個の菌を証明しうるにすぎず、特に、H₂ と略々等しい生菌数を接種された oV 群では、菌の増加率も低く、消失も速かであった。以上の成績から次の如くいいうると思う。Vole Bacillus は oV も D₁₅ も、天竺艸の静脈内に接種された場合に、一定期間明かに強い病変を臓器に來さしめ、菌数の増減曲線も著明に BCG のそれと異なるという点で、BCG に比して Virulence が高いといいうるが、H₂ に比すれば又明かに相違し、8～10 週以後肉眼的に認めうる結核性病変の減少及び菌数の急激な減少という点で明かに特徴づけられている。即ち天竺艸に対する Virulence は BCG より高いが H₂ よりは明かに低い。又実験条件としての接種生菌数が等しくない為に D₁₅ と oV との差異は明かではないが、体内残存がやや長いことから、D₁₅ の方がやや Virulence が高いように思われる。

43. マウス全身 homogenize 法による結核菌毒力に関する研究

山村雄一・加藤允彦・三木勝治・松永清輝・山村好弘・谷淳吉・寺井武雄 (国療刀根山病)

結核菌の毒力を、その宿主体内増殖力によって或程度定量的に測定することを目的として、結核感染マウスの臓器培養法が最近 Dubos 一派によって報告されているが、この場合接種した菌株の全菌群としての毒力を表現するためには、宿主環境や接種菌群を全体的にとらえる方法がのぞましい。そこでわれわれは感染結核菌全数の宿主体内における運命を追求するために、マウス全身 homogenize 法を用い、種々の感染条件下における全生菌数の消長、および P³² 標識結核菌を注入した場合の radioactivity 消失の経過を、病原菌および非病原菌の両菌株について比較検討して以下のような成績を得たので報告する。〔方法〕実験動物としては SM 系あるいは NA-2 系マウスを用い、種々の感染経路によって人型結核菌 H₃₇Rv および H₃₇Ra の一定生菌單位数をその体内に分布させたのち、週を追って mixer でその全身を homogenize し、1%NaOH 溶液として 5～10 分処理後段階稀釈して小川培地に接種、37°C で 4 週間培養後集落計算を行った。なお一部比較実験として、肺、肝、脾内の生菌数の消長を、glass-homogenize による臓器培養法によって追求した。P³² 標識結核菌としては、H₃₇Rv、BCG、および鳥型竹尾株の P³² (20μc/ml) 添加 Sauton 培地培養菌を用い、同様の操作によって得られた homogenate を湿式灰化したのち、その中の P³² を燐モリブデン酸アンモニウムの沈澱として集め、その radioactivity を測定した。〔成績〕(1) H₃₇Rv と H₃₇Ra の全身中および臓器内における生菌数消長：(接種生菌單位数：H₃₇Rv = 7.2×10^4 , H₃₇Ra = 8.5×10^4 , 感染経路静脈内) 全身の生菌数消長は、H₃₇Rv では感染 2 週後

まで旺盛な菌数増加が見られ、2週後をピークとして下降してのちも一定の菌数水準が保たれるが、 $H_{37}Ra$ では持続的な菌数の減少を示す。これを従来の臓器培養法による肺、肝、脾内の菌数消長と比較して見ると、 $H_{37}Rv$ 、 $H_{37}Ra$ とも、肺、脾では全く同様の消長曲線がえがき、脾では急速に増加して2週後をピークとして以後減少し、肺では4週以後にピークをもつただらかな菌数増加を示す。ただ、肝においては $H_{37}Rv$ が2週後にピークをもつ増殖死滅曲線を示すのに、 $H_{37}Ra$ では持続的な菌数の減少が見られた。すなわち、臓器内生菌数の消長は臓器によってまちまちであり、又おのおのにおける生菌数の推移が、感染菌株の宿主体内増殖力をその儘表現しているとは考え難いのである。(2) $H_{37}Rv$ の全身中生菌数消長におよぼす感染菌数の効果： $H_{37}Rv$ の $4.9 \times 10^3 \sim 4.9 \times 10^5$ 生菌単位数を静脈内に接種して生菌数の消長を比較すると、この菌数の範囲では、小菌数感染の場合ほど最大菌数に達する時期は遅れるが、感染6週後にはいずれの接種菌数に対してもほぼ同数の菌数水準が維持されている。(3) 感染経路の全身生菌数消長におよぼす効果： $H_{37}Rv$ (1.2×10^7)を皮下、腹腔内、静脈内に接種した場合の全身中の生菌数推移には、感染4週後まで殆ど差をみとめず、6週後にはじめて皮下接種群にだけ著明な菌数の減少がみとめられる。 $H_{37}Ra$ (2.6×10^6)接種群においては、この3感染経路による菌数消長の差異はみとめられず、いずれも持続的な菌数の減少を示す。(4) $H_{37}Rv$ (14.1×10^5)、BCG (12.0×10^5)、鳥型竹尾株 (6.8×10^5)のそれぞれ生菌を静脈内に注入した時の、 P^{32} 消失の経過：全身の消失は鳥菌竹尾株がもっとも早く、BCGがこれにつき、 $H_{37}Rv$ ではもっともゆるやかであった。一部肝について行った成績も全く同様の結果を示した。(5) $H_{37}Rv$ および鳥型竹尾株の加熱死菌静脈内注入時における P^{32} 消失の経過：加熱死菌を用いた場合でも、鳥型竹尾株では $H_{37}Rv$ にくらべての消失がすみやかであり、このことはマウスに対して病原性をもつ菌株— $H_{37}Rv$ —に、非病原菌株にくらべて宿主体内で処理され難い特異な菌体成分のあることを示唆するのである。〔むすび〕われわれのマウス全身homogenize法は、「マウスの全身組織」という宿主環境における、感染菌株の全populationの動向を追求しようという点で、結核菌のマウスに対する毒力を宿主寄生体関係としてとらえ、その毒力現象の機作を明かにする上に有用であると考えられる。

44. 色素による抗酸性菌の病原性試験について

高木篤・松尾仁(鳥取大細菌)

試験管内で抗酸性菌の病原性を知ろうという試みがある。即ちNeutralrotによるDubos-Middlebrookの反応、NilblauをもってするDesbordésの反応及びPhenol-indophenol等4種の色素によるWilsonの反

応である。我々は肺結核患者からの新分離結核菌16株、保存病原性及び非病原性抗酸性菌の44株及び各種非抗酸性菌41株に就いて、これらの反応を平行して追試したので報告した。Dubosの方法は、原著に従い成績判定は菌体がNeutralrotの酸性色の濃い赤色をとるものを(卍)、わずかに桃色に染るものを(+), その中間を(卍)とし、全く色素をとらぬか黄色に染るものを(一)とした。Desbordésの反応も略原著者の方法に従い、成績判定は陽性のものはNilblauの青色をとるがその濃さにより(卍)、(卍)、(+)とし、淡赤灰色を呈するものを(一)とした。Wilsonの反応はSodium benzenone indophenol, Sodium benzenoneindo-3'-chlorophenol, Sobium 2,6-dibromobenzenone indophenolの三色素を用い、菌が全く色素を脱色するものを(一)、殆んど全く脱色を認めないものを(卍)、以下脱色の程度によって(卍)、(+)とした。実験結果を概略して述べるならば、新分離結核菌は凡てDubos, Desbordésの反応共に(卍)と判定され、細かな着色の差は認められず、Wilsonの反応に於ては各菌株により又各色素により軽度に脱色されたものもあるが、脱色されないものが大部分であった。三反応は略平行するものと思われる。尚Wilsonの反応の三試薬の内ではSodium benzenoneindo-3-chlorophenolが最も脱色され易いようで、他の二者の間には差は認められないようであった。保存人型及牛型結核菌に就いては、人型菌はDubos, Desbordés両反応共(卍)、Wilsonの反応はやはり殆んど脱色されないもの多く、軽度に脱色されたものも見られるが三反応成績が一致すると思われる。牛型菌ではDubos, Desbordés両反応は(卍)、(卍)が大部分であるが全く(一)の2株を認め、Wilsonの反応はこれ等に対し略平行関係が認められる。然してBCGはDubos, Desbordés両反応共に弱陽性、Wilsonの反応は強毒の人型、牛型菌の場合と同様の態度を示した。保存鳥型菌は2株を除いてDubos, Desbordés両反応(一)であり、Wilsonの反応でも色素脱色の度が強く、Dubos, Desbordés両反応陽性の2株は脱色する度合低く略平行した成績を認める。非病原性抗酸性菌は920(1), 920(2)を除いて凡てDubos, Desbordés両反応共に(一)であるが、陽性のもも又陰性のももこれに対応するWilsonの反応は成績まちまちで平行関係は認められない。非抗酸性菌の24時間培養のものに就いて実験した結果は、Dubos, Desbordés両反応は凡ての菌が陰性であるが、これに対してWilsonの反応は成績まちまちで平行関係は認められない。以上Dubos, Desbordés, Wilson三反応は抗酸性菌の試験管内の病原性試験として三者を比較するならば、主として非病原性抗酸性菌のWilsonの反応に、Dubos, Desbordés両反応(一)であるに拘らず陽性の成績を見る等かなり成績の平行しない結果が見ら

れるも、Dubos, Desbordes 両反応は人型、牛型の病原性菌に於ては殆んど強陽性を示し、反面その他の菌は殆んど(-)で意義ある方法と思われる。殊に Dubos の反応は実施も容易であり且安定な緩衝液のもとで行われる為判定も容易で、良い方法といえると思う。Desbordes の反応はこれに次ぐも炭酸ソーダ溶液には緩衝能なく時間と共に容易に pH が変わり菌体の、Nilblau による着色度の差が見分け難くなり、Wilson の反応ほどではないが Dubos の反応に比べると多少劣ると思われる。又これ等の反応は凡て原著者等も認める如く毒力の判定に対し動物実験を必要としないという程確定的な方法と迄はいえないようである。この事は当然毒力に差のあるものと考えられる新分離及び保存人型結核菌が凡て同じ(卅)を示す事から明らかであるといえよう。更に非病原性抗酸性菌の、920が Dubos, Desbordes 両反応に弱い乍らも陽性を示し、牛型の12株中2株が全く陰性を示し、鳥型10株中8株全く(-)で2株しか陽性のものがない事、更に又毒力差ある筈の人型菌が凡て(卅)で Heim のいう如くには細かい着色度の差を認めなかった点など、動物実験を加え詳しく追求して見る必要があると思われる。尙、BCG が Dubos, Desbordes 両反応共弱陽性で Wilson の反応に於て全く色素を脱色しなかった事は、Hauduroy 等の成績と一致し、過去に毒力のあった事を思わせるものとして興味ある事と思われる。

〔追加〕 豊原希一(結核予防会結研)

ノイトラル・ロート反応、ニールブルー反応は生菌塊よりも死菌塊の方に、より強くおこる。またエーテル、アセトン等の脂肪溶剤を強く作用させると呈色しなくなる点から、この反応の本態は菌体周囲のリポイドによるものと考えられる。ノイトラル・ロート反応は牛型菌の方に人型菌よりむしろ強くおこる。ニールブルー反応は鳥型菌にも、相当強よくおこることがある。2-6-dichlorophenol-indophenol 反応は死菌塊でもおこることから酵素反応ではないと考えられる。いずれの反応でも培地培養期間等種々の条件を一定にして検討しなければならぬ。

45. ツベルクリンの研究(第5報)ツ活性蛋白の部分分解のツ活性への影響

糟谷伊佐久・熊谷謙二・後藤甚作(国立東二病)萩谷彬(立教大薬理)

結核菌培養濾液蛋白がツ活性の主体であることは疑を容れないが、ツ蛋白の活性本態と化学構造の関係は依然未解決の問題である。吾々はここに電気泳動的にはば単一と考えられる塩基性の人型菌培養濾液蛋白が、その構成ペプチドへの分解過程に於て、如何なる活性の推移を示すかを系統的に観察しようと試みた。蛋白の部分分解には、成るべく自然に近い、長いペプチド鎖を得る目的で F.Sanger の過蟻酸 HCOOOH 低温分解法を用

い、得られたペプチド群の分離には再び濾紙電気法(pH6.8の磷酸緩衝液)を、ペプチドの単離、及びN-末端基決定を含めてのペプチドの構造研究は再び Sanger の方法を、そしてツ活性の検定は予研標準阻ツを対照とする死菌感作海鯨の皮内反応を用いた。(1)濾紙電気泳動的に単一化された人型菌培養濾液ツ活性蛋白は HCOOOH 低温分解(-10°45')によって Cystein 酸を含む二本のペプチド鎖に分割される。このことはツ蛋白の構成ペプチドが、Insulin の例に於ける如く、-S-S-橋により結合されていることを示すものであるが、これらのうち1本は加水分解により [CySO₃H][GLn][Sen][GLy][Thr](x₁)[Val]-(I)を生じ、ツ不活であるが、他の1本 [CySO₃H][GLu][GLy](x₂)-(II)は瞭らかに48時間後も O.T 同等(濃度はニンヒドリン呈色により数γ以内と判定)の活性を示すことが判る。(2)2-4-Dinitrophenol (DNP) 法により(II) Nの末端基を決定すると、N末端基は x₂ であって、しかも合成 α-及び β Alanine を対照とする DNP アミノ酸のペーパークロマト及び(II)の加水分解物の Phenol, BuOH 系二次元ペーパークロマトにより x₂ は稀アミノ酸といわれる β-Aanine H₂N·CH₂·CH₂·COOH(III)であることが確認された。(3)活性ペプチド(II)より(III)の離脱は(II)を失活させるから、恐らく(III)は(II)のツ活性の発現に重要な役割を演じているのではなからうか。(4)尙この(III)は、未分解のツ蛋白を直接 DNP 化しても得られるので、(II)のペプチド鎖は開放されていると考えられる。

〔追加〕 武谷健二(九大細菌)

従来非蛋白性活性因子の研究をすて、われわれと同様に蛋白性の活性因子の研究に着手されたことは喜ばしい。低分子ポリペプチド性活性因子に関しては、大友とともにトリプシン消化πからトリクロール錯酸で落ちず、燐タングステン酸で落ちる物質をわれわれも昨年報告した。(日本医事新報)

46. 菌株及び培地成分とツベルクリン産生との関係

戸田忠雄・武谷健二(九大細菌)坂本さつき・武原雄平(福岡県衛生研究所)

九大細菌学教室保存の青山B株を用いて作製したツは、毎常標準ツ液の5~10倍の力価を示すことを経験している。また、一般に培養濾液からの精製ツ蛋白の収量は1l 当り200~400mgと報告されているが、教室では常に1000~1400mgの収量を得ている。しかも、このツ蛋白割合は電気泳動によればきわめて多量の加熱C蛋白を含んでいる点でも特異な性状をもっている。これがこの株の特徴であるとすればきわめて興味深いと考えられる。この点を明らかにするために、予研継代の青山B株を対照とし、ソートン原法培地とソートン・味の素変法培地とに培養して各種の性状を検討した。一方、He-

rrman(1952)は培地中のアスパラギンの一部または全部を NH_4Cl でおきかえると菌の収量はへるが、ツ蛋白産生量及びツ活性はあまり変わらないと報告しているので、これについても検討した。1) 九大青山B株を用い先ず NH_4Cl 添加培地についての検討を行った。培地としては、ソートン系原法培地(A)、このアスパラギンの一部を NH_4Cl でおきかえた培地(AC)、ソートン、味の素変法培地(G)、この味の素の一部を NH_4Cl でおきかえた培地(GC)の4種の培地について、培養の週を追って、pH、菌量、ツ蛋白量を比較し、12週培養のものについて蛋白及び多糖体割合を分割定量し、ツ活性を比較した。pHはGのみ強アルカリ性を示し、他は次第に酸性にかたむく。 NH_4Cl 添加培地では、菌収量少なく、ツ蛋白量も少ない。力価もまた弱く Herrman の成績とは異なる結果が得られた。2) 九大青山B株及び予研青山B株をA及びG培地にうえ、週を追って各種の性状を比較した。pHは九大Gのみ強アルカリ性で、他は酸性に傾く。菌量は何れも大差はないが、還元糖量は予研株が一般に多かった。ツ蛋白量は九大株が一般に多く、特にGが多かった、さらに12週培養濾液について、蛋白及び多糖体割合を分割定量し、力価を測定し詳しい比較を行った結果、九大株についてみると、Gは著しく多量の加熱C蛋白を含み、従来の成績をよく裏書きしている。Aではこの加熱C蛋白量が少く、これに比較して加熱A及びB蛋白量が多い。力価はほぼ蛋白の量の種類から想像される値を示した。予研株では、この実験ではGは強アルカリ性を示したが、蛋白量は一般にAがやや多く、九大株のような特有の性状は示さない。多糖体IIの量が九大株よりかなり多く、前述の還元糖量が予研株に多いという成績とよく一致している。力価はAがやや強かった。3) 以上の実験から、九大青山B株はG培地にうえた場合、終末pHは強アルカリ性となり、きわめて多量のC蛋白を産生し、従って強い力価を示すことが明らかになった。このように多量のC蛋白が得られることは、培地pHが強アルカリ性となることと、かなりの程度に関係をもつものと考えられる。しかし、結核菌の表面培養は菌膜の性状の僅かな相違や、液体培地継代数等によっても影響をうけるので、さらにこれらについて検討を行いたい。

〔質問〕 高橋重幸(阪大竹尾結研)

青山B株をグルタミンソーダ加ソートンに培養致しますと、われわれの所では、4週位で菌が沈降する。沈降した場合には菌量に如何な変化があるか。

〔回答〕

われわれの経験では4週位で沈降するものとしえないものがある。沈降した場合は表面に再び薄い菌膜ができる。

〔質問〕 武田徳晴(伝研)

培養基内のアミノ酸の種類と菌株と何れが重要なことになるか。

〔回答〕 現在までの成績ではどちらも関係しているようである。

〔質問〕 庄司宏(阪大微研竹尾結研)

培地pHの変化は竹尾鳥型菌を用いた場合グルタミン酸ソーダを用うるとアルカリ化するが、グルタミン酸を用い NH_3 でpHの補正を行うと培養末期にアルカリ化する事はない。Wongは葡萄糖を加えた場合アルカリ化によりツ活性の強い濾液を得ている。C蛋白の多くなったのは添加したアミノ酸によるよりも、pHなど培地の物理的条件の変化が大きな作用をしているのではないだろうか。

〔回答〕 教室の大友が先に「結核」に発表したように、菌体を集めて加熱する場合には、溶媒のpHがアルカリ性に傾く程多量のhC蛋白が抽出される。従ってわれわれも最初はpHだけの問題と考えていたが、本日示したように予研青山B株・味の素培地培養のものでpHは8.8となっていながらhC蛋白の収量の少ないものがあるので、pHだけでも完全には説明できない。

47. ツベルクリン過敏性の他働的移行に関する研究

(第2報)

塩田憲三・宇佐美正暢・福本美智子(大阪市医小田内科)

第28回本学会における報告に引続き今回は他働的に移されたツ過敏性の本態、及びそれに関興する細細を追究した結果を報告する。〔実験方法及び成績〕第1実験：顆粒細胞によるツ過敏性の移行と細胞の崩壊 Kirchheimer等に倣い、中性 Bovillon を感作海猿の腹腔に注入して得た細胞は、殆んど100%顆粒細胞より成っている。これの細胞の海猿2頭分を1頭のツ陰性海猿の腹腔内に注入し、48時間後にツ反応を見た。また別にこの細胞の生理食塩水浮游液 0.2cc をツ陰性海猿の腹壁皮内に注射して Prausnitz-Kühren 氏法でツ過敏性の移行を見たが、何れも陰性であった。又 Schmidt に従って細胞の一部を食塩水に浮游し 1cc 宛2本の試験管に分注し、一方に10倍旧ツ 0.1cc を、他方に対照として食塩水 0.1cc を加え、室温に放置して直後及び1時間後に塗抹標本を作り細胞の崩壊を見たが、崩壊は見られなかった。第2実験：感作海猿腹腔内炎症細胞によるツ過敏性の移行と、Schultz Dale 反応 Chase の方法で、流バラを感作海猿の腹腔に注入して得た細胞の4頭分を1頭のツ陰性海猿の股静脈より注入し、24~48時間後に5倍旧ツでツ反応が陽性である事を確めた後屠殺し、廻腸の末端部を用い、Magnus の装置を使って、透析ソートンツベルクリンを抗原とする Schultz-Dale 反応を試みたが、特異的収縮を認めなかった。また別に腹腔細胞の

一部を用い、前述 Schmidt の方法で細胞崩壊度を見たが、有意の成績は得られなかった。第3実験：急性期乃至亜急性期の肋膜炎患者から、0.8%の割合にクエン酸ソーダを加えて、出来るだけ大量の滲出液(500cc以上)を取り、1500~2000回転で、5分遠心し、沈渣を生理食塩水で2回洗滌後3~4ccの生理食塩水に均等に浮遊して、ツ陰性海猿の股静脈より注入、24~48時間後に5倍旧ツ0.1cc皮内注射によりツ反応が陽性である事を確かめた後実験に供した。実験3)のa)他働感作海猿のSchultz-Dale氏反応：他働感作海猿の廻腸末端を取出し、第2実験と同様に反応を見たところ、検査数5例中3例に於て、抗元の終末稀釈濃度1000倍に対して特異的に腸管が収縮するのを認め且つ脱感作も完全に行われた。実験3)のb)他働感作海猿白血球の崩壊実験：クエン酸ソーダで凝固を防ぎ乍ら、他働感作海猿より心臓穿刺により2ccの血液を取り、Silicone coatingを施した2本の小瓶に分注し、一方に10倍旧ツ0.1ccを、他方に対照として生理食塩水0.1ccを加え、室温に放置して直後及び3時間後に、白血球数計算及塗抹標本作成した。塗抹標本はGiemsa染色後、Berdel u. WiedemannのCytolysenquotient(C.Q.)を計算致した。健康海猿では、白血球数は3時間後に於ても+6.5%~7.9%の間を動揺し、殆ど減少を示さずC.Q.を0.93~1.15の間止るのに反し、他働感作海猿では白血球数は夫々、-44.2%、-23.6%、C.Q.は夫々0.39、0.63と著しく減少し、白血球、殊にリンパ球が崩壊した事が判った。〔総括〕①吾々は、感作海猿腹腔より得た顆粒細胞では、ツ過敏性を他働的に移す事が出来ず、且つ該細胞は旧ツにより崩壊しない事を認めた。②流パラを感作海猿腹腔内に注入して得た、主として単核細胞より成る炎症細胞の、4頭分を1頭のツ陰性海猿の股静脈より入れると、ツ過敏性は移るが、腸管のSchultz-Dale反応は証明出来なかった。③大量の肋膜炎滲出液中の細胞を静注すると、ツ過敏性が移るだけではなく、5例中3例に於て腸管のSchultz-Dale反応を認め、且つ脱感作も成功した。尚、Schultz-Dale反応を見なかった場合があったのは、注入細胞、換言すれば抗体の量が少かった為と思われる。④⑤他働感作海猿の血液に就て、3時間放置法による白血球崩壊試験を行ったところ、旧ツにより白血球が著しく崩壊する事を認め、崩壊するのは主としてリンパ球であった。〔考案並びに結語〕以上の事実から吾々は次のように考える。①主として単核球より成る肋膜炎滲出細胞を用い他働的に感作した海猿の流血中白血球が、ツの存在の下に特異的に崩壊する事から、吾々の移し得た反応が、所謂ツ型の反応であると言えると思う。②又この事から吾々の用いた単核細胞はツ型抗体と細胞崩壊に關与する因子とを同時に担っていると思われる。③深瀬氏(京大)等の実験や、吾々のBerdel

等の方法を用いた実験から、この単核細胞中抗体を担うものはリンパ球であると思われる。④他働感作海猿にSchultz-Dale反応が出現する事、及び先に報告した抗体の一部が血清に移行する事を考え併せると、ツ皮膚反応にArthus型の因子を否定し去る事は困難ではないかと思われるが、この点については尙今後検討を加え度い。

48. ツベルクリン活性因子の研究

伊藤政一・高橋重幸・井出幸彦(阪大竹尾結研)

われわれは既に精製ツ蛋白 T_{460} に関する各種の研究並びにツの電気泳動的研究を報告して来たが、今回は、1)アセトンによるツ蛋白の精製法と2)ツベルクリンの電気泳動的研究の一部を報告する。(1)アセトンによるツ蛋白の精製法に就いてa)精製法：ツを 50°C の重湯煎で $\frac{1}{5}$ に濃縮後 -10°C に冷却せる5倍量のアセトン中に加え生じた沈澱を蒸留水に溶かし、三塩化醋酸でpHを4.6とし、沈澱するツ蛋白を集め透析後冷凍真空乾燥を行う。これを $T_{460}\text{ACT(I)}$ と名付けた。または上記の濃縮方法を変えて、ツを氷結せしめ速やかに溶解する部分を採取しこれを再び氷結せしめ其の速やかに溶解する部分を採取して、最初のツの $\frac{1}{4}$ に濃縮し以下上記方法と同様に処理した精製ツ $T_{460}\text{ACT(II)}$ を得た。b)力価試験：先に報告した三塩化醋酸法による精製ツ T_{460} (予研製ツ2000倍に対する発赤比は0.17で1.02)を対照として人体に就いて力価を検討した。 $T_{460}\text{ACT(I)}$ は発赤比0.99、 $T_{460}\text{ACT(II)}$ は0.94またアセトン-三塩化醋酸でpH4.6沈澱後pH1.2として得たツ蛋白は0.76であった。c)電気泳動：主峰以外に先行する小さな峰が認められた。主峰の移動度は $6.3 \times 10^{-5}\text{cm}^2/\text{volt}\cdot\text{sec}$ であった。2)ツベルクリンの電気泳動的研究：使用したツベルクリンはすべて青山B株グリシン加ソートン培地8~10週培養のものである。また電気泳動条件は、日立チセリウスミクロタイプを使用し、緩衝液は磷酸緩衝液、 $\mu=0.1\text{pH}8.0$ 恒温槽温度 $0^{\circ}\sim 4^{\circ}\text{C}$ 。a)ツ原液に就いて：我教室の所謂ツ原液では、必ず移動度の早い約 $17 \times 10^{-5}\text{cm}^2/\text{volt}\cdot\text{sec}$ (測定温度 10°C)の独立した小さなピークが認められる。培養濾液を非加熱の状態、ザイツ濾過後12%セロイデン膜を用いて氷室で限外濾過を行い濃縮したものではこのピークは認められない。またこの濃縮液を 100°C 1時間加熱してもかかるピークは出現しない。更に所謂ツベルクリンをザイツ濾過後上記限外濾過を行こうとこのピークが認められる。加熱死菌を、石油エーテル、トルエン、アセトンで乾燥し、蒸留水で加温浸出したものでは移動度の早い。やや独立した小さなピークが認められる。従って所謂ツ原液に見られるこのピークは加熱により菌体から浸出される可能性が考えられ、または培養濾液中のあるComponentが加熱により変性して濾過膜を通過し度く

なることが考えられる。分離採取して力価を調べた処 0.1 γ で三塩化醋酸法 T_{460} 0.1 γ に対し夫々発赤比 0.7 と 1.0 とを示した。このピークと他のピークとを電気泳動で更に非加熱濃縮培養濾液は加熱により、蛋白部分の複雑な Boundary は単純化する。この現象を追求する為非加熱培養濾液の温度変化をみたところ、60°C 20 分間の加熱より Boundary は smooth となり、鋭化する。蛋白部分の面積は加熱前と加熱後とは殆ど変化しない。また移動度にも一定の変化は認められなかった。この現象は 100°C 20 分加熱迄の条件ではほぼ同様である。唯 70°C 以上の加熱では極少量の沈澱を生じた。力価に就いては、海狸 7 匹の平均値で殆ど変化がない様であるが、高温加熱になるにつれ多少減弱する傾向があるようである。この非加熱濃縮培養濾液を 65°C 及び 80°C で時間的な変化を見たが、電気泳動では上記とはほぼ同様な変化を認めた。Mirsky, Anson の方法に準じ、-SH 量を測定したが 65°C では殆ど変化がなかった。次に超音波による影響は、10 分間で温度による変化と全く異った変化が電気泳動図に見られた。-SH 量では減少を示した。b) Protein A, B, C の加熱による変化: F. B. Seibert の方法に準じ (濾過膜は 12% セロイデン膜を使用) て得たものをそれぞれ 100°C 15 分加熱すると泳動図は変化するが、蛋白部分の面積は殆ど変らない。全体の傾向として泳動図は鋭化する様に思われ、C ではこの現象が著明であった。

49. ツベルクリン蛋白質の変性に就いて

多田秀夫・内藤善雄・伊藤政一 (阪大竹尾結研)

ツベルクリン活性をツ蛋白質の構成上から追求するために、先ずツ蛋白質の変性をツ蛋白質分子の内部構造上、その化学的活性基の反応性の変化に於て検討しようとした。前回は蛋白質の変性を基の変動に於て種々検討したが、今回は更にフェノール反応、チアゾ反応、及び 2-4 Dinitrofluorobenzene (DNFB) と略す) との反応に於て種々なる蛋白質を比較しつつ未変性と変性との変化を観察した。BCG T_{460} (BCG のソートン培養濾液を pH 4.6 にて沈澱せしめて処理した精製ツ蛋白) をアルカリ加熱 (pH 9.0, 100°C, 60分) すると力価が 0.85 に減弱し、主としてこの時の変化を目標にして、更に他の変化を参考にして種々なる変化を検討した。フェノール反応: 蛋白質 (0.1% の割に) 0.008N NaOH に溶解) 2cc に Na_2CO_3 6cc, 0.1% CuSO_4 1cc 及び $\frac{1}{3}$ 稀釈フェノール試薬 1cc を加え、 S_{66} にて比色する。変性は蛋白質のアルカリ性溶液を 10分, 20分, 30分, 60分, 100°C 加熱し、又尿素を 5M 及び 10M に加え、24 時間室温放置後透析した。

卵アルブミン及び BCG T_{460} 共にアルカリ加熱により、未処置のものより強い呈色反応を示す。卵アルブミンは BCG T_{460} より反応が敏感である。尿素変性にて

BCG T_{460} はより強い呈色反応を示す。チアゾ反応: 今回の実験では変性、未変性の間に変化が見られなかったが更に検討中である。DNFB との反応: DNP 化には蛋白質 50mg, NaHCO_3 200mg を蒸留水 2cc に溶かし、DNFB 50mg を 4cc のエタノールに溶かした溶液を加え、2 時間室温暗所で振盪し、遠沈後アルコール、エーテルにて洗滌乾燥する。蛋白質は卵アルブミン、大豆アルブミン、小麦アルブミン、ラクトグロブリン、青山 B T_{460} , BCB T_{460} 等を用い、それぞれ DNP-蛋白を作り、Beckman spectrophotometer にて吸収曲線を比較するに、蛋白質のみの吸収曲線には見られない吸収極大が 360m μ に見られる。又未変性のものに比しアルカリ加熱したものは極大 360m μ の位置は変らないが、その optical density は増加している。之は主として蛋白質の分子構造上の変化により DNP との反応基が増加したものと思われ、この反応には蛋白質末端のアミノ基が関係するが変化は蛋白構成アミノ酸の構造上リジン、アルギニン、ヒスチジン、チロシン、システイン等が関係すると推定され得る。次に各種蛋白質に DNFB を作用させた際の反応後、残液に残存せる過剰の DNFB 量を測定するために最初ジエチルアニリン、ジエチルアミン、ベンチルアミン等を反応させて DNP 化した。比較し難く、次に残液にグリシン 50mg, NaHCO_3 100mg を蒸留水 1cc に溶かしたものを加え、2 時間振盪後、塩酸性にしてエーテルにて抽出し、DNP-グリシンを作り、340m μ に吸収極大を認めた。その位置に於ては変性のものは未変性のものより DNP-グリシン量の減少即ち残存 DNFB 量の減少を示し、之は前記の蛋白質中の DNP 化量の増加を証明している。更に DNP-蛋白を分解して、カラム・クロマトにより ϵ -DNP-リジンを目標にして変性による変化をみている。

〔質問〕 糟谷伊佐久 (国立東二病)

(1) DNP 化されたツ蛋白から如何なる N-Terminal が得られましたか。(2) われわれの研究も同方向に向っているので、今後の御研究の発展を伺わせていただきたい。

〔回答〕 現在は、DNP-Protein を分解して DNP-アミノ酸 (特に ϵ -DNP-Lysine) を目標にして変性をみている。部分分解的なところもやってみたいと思っている。

50. マウス実験結核の研究 (第 1 報)

上坂一郎・大岩弘治 (京大結研細菌血清)

われわれは今後マウスを使用して結核菌の virulence の変化、マウスの遺伝因子と結核感受性との関係、或は抗結核剤のスクリーニング・テスト等を行う目的を以て先ず第 1 報として、その基礎的なデータをここに発表する。マウスの実験結核に関与する要因としては、宿主の側からすれば、生活日数、体重、雌雄の別、実験の季節、飼料、遺伝因子、系統等であり、又菌の側からすれば

ば、培養日数、菌量、生菌数、培養基の種類、菌株、接種の方法等の要因に支配される。また判定方法によっても、その成績は若干変動する。わわれわれの今回の実験は菌は $H_{37}Rv$ の Sauton 培地継代培養のもの、マウスは三島遺伝研の Sm 系、星野マウス遺伝研の 061 系の 2 種、飼育方法は略するが、飼料はオリエンタル酵母の固形飼料である。判定の方法は、均一系マウスを使用する以上は多くの利点を有する平均死亡日数で判定する方法をとった。先ず、死亡日数のみで判定可能か否かを検討する為に 061 系マウスに 4 週培養菌 5mg の腹腔内注射を、日を変えて 2 度行った所その死亡日数には殆んど差はなく、最も影響を与えるものはマウスの生後日数であると考えられる成績を得た。そこで 061 系マウスに 4 週培養菌の腹腔内注射という同一条件でマウスの生後日数の異なる集団に対する死亡日数の差を検討した。1~1 カ月半のものでは T_{50} は 35 日、2 カ月は 43 日、4 カ月、6 カ月は 65 日前後であって、生後日数が延びるに従い、分散も大となって来る。以後の実験には全て、1~1 ヶ月半のマウスを使用した。菌の培養日数との関係は 2 週と 4 週では 26 日と 35 日であって、10 日の開きを生ずる。この時の生菌数は 1mg 中 1.2×10^7 と 3×10^6 とその間約 4 倍の開きがあり、この生菌数の差が死亡日数の差を生ずる大きな原因と考えられる。次で均一系マウス 061 系と Sm 系の差であるが、4 週培養菌 10mg を腹腔内に入れた場合に T_{50} は 061 系では 25 日、Sm 系では 35 日であって、061 系の方が感受性が強い。接種方法の相異は Sm 系マウスで 1mg を腹腔内に入れた場合は 9 匹中 2 匹のみ 70 日以内に死亡、静脈内では T_{50} 43 日、脳内では 22 日と短くなる。接種菌量との関係は 061 系、4 週培養菌を腹腔内に 1mg、5mg、10mg と接種した結果は T_{50} に大きな差を生ずる。Sm 系静脈内 3 週培養菌の場合も、0.1、1、5mg と T_{50} は大きな差を以て表われて来る、この結果を接種菌量の対数を縦軸に T_{50} を横軸にとれば、直線関係を示す。以上の成績よりして、今後の実験基準として、均一系マウスであっても、なるべく生後日数の若いものを使用すべき事、平均死亡日数が少くとも 15 日より 40 日の間に来るように菌株、菌量、接種方法、マウスの系統等を選ぶ事、そうすれば、死亡日数は正規分布をとり、分散も小さく、判定方法として死亡日数のみを以てしても可能であると考えられる。

51. マウス結核症に関する研究 (ストレプトマイシン抵抗性と各種抗結核剤併用時の抵抗性)

手塚孝・水之江公英・梁慶雲・鈴木直純(北里研究所)
マウス結核症に関し、ストレプトマイシン抵抗性と各種抗結核剤併用時の抵抗性に就いてわれわれの実験した結果を報告する。実験に用いたマウスは mice strain CF W であり、使用菌株は強毒人型結核菌黒野株を用いた。黒野株を 0.1mg マウスの尾静脈に注射して、これに毎

日 SM を筋注射し、マウスの大半を 7 週間以上生存させる SM 量 1000 γ と 3000 γ の場合のマウスの血中濃度を測定した。注射後 1 時間、3 時間、6 時間、12 時間、24 時間目に測定して見ると、注射後 1 時間目が最高で、血中濃度は 1000 γ の場合は約 6 γ 、3000 γ の場合は約 9 γ となる。3 時間目にはずっと少くなり、6 時間目には非常に少なくなって 3000 γ の場合は測定出来たが、1000 γ の場合は測定が困難であった。12 時間目、24 時間目には極めて微量であって殆ど測定が不可能であった。これ等 SM1000 γ 及び 3000 γ を用いて感染マウスを治療した。第一の実験では体重 15gr 前後のマウスを 6 群に分ち、内 2 群は黒野株の 0.01mg を尾静脈に注射して感染させ、翌日から毎日 SM を夫々 1000 γ と 3000 γ 筋注射して 2 カ月間治療した。他の 4 群は黒野株の 0.1mg で感染させ、それぞれ SM1000 γ と 3000 γ で治療し、内 2 群は 2 カ月間、他の 2 群は 4 カ月間治療した。これ等 2 カ月後及び 4 カ月後に耐性を測定して見ると、0.01mg で感染させた場合は 0.1mg の場合に比して耐性の出現が少い成績を得た。これ等 0.1mg で感染させた場合の SM 耐性と臓器別、治療期間、及び SM 使用量との関係を見ると、臓器別では肺・脾・肝・腎臓の中では肺臓に一番多く耐性が見られ(29.6%)、次いで脾臓(13%)、肝臓(1.9%)の順序で腎臓には耐性の出現が見られなかった。治療期間に就いていえば 1000 γ で治療した場合は 2 カ月より 4 カ月の方に多くの耐性が見られたが、3000 γ の場合は 2 カ月と 4 カ月との間に著しい差が見られなかった。使用量に就いていえば 2 カ月治療した場合には 1000 γ 治療より 3000 γ 治療の方に多くの耐性が見られたが、4 カ月の場合は 3000 γ より 1000 γ 治療の方に多くの耐性が見られた。定量培養の結果は、菌増殖の最も多いといわれる肺臓に菌数が最も多く、而も耐性が最も多く出現した。次いで脾臓に菌数が多く、耐性も肺臓に次いで多かった。又 4 カ月治療の場合、3000 γ では菌の増殖が阻止せられて菌数が少く、1000 γ では菌の増殖阻止が少いので菌数が多く出たものと考えられる。耐性も此場合 3000 γ より 1000 γ の方に多く見られたのであって、一般に菌数の多い方に耐性も多く見られるという成績を得た。菌増殖の旺んな程、従って菌数の多い程耐性を獲得した突然変異菌の出る機会が多いわけで、菌増殖と耐性獲得との間に極めて密接な関係があることが察知せられる。第二の実験ではこのマウスで 10 γ に耐性を獲得した菌を色々の割合に原株の感受性菌に混合して、その 0.1mg をマウスに感染、SM 1000 γ と 3000 γ とで治療した。この際混合菌液の各 Population を見ると、 10^{-5} に於て、だいたい正しく耐性菌の混合されていることが確認された。この SM 10 γ 耐性菌の各 Population に於ける治療成績を見るに、10%に混合した処迄は生存マウスが得られたが、25%以上になると 1000 γ 及び 3000 γ 治

療の両群共全部斃死して、治療の効果が認められなかった。Hinshaw は SM 10 γ 耐性菌は 25% 以上では SM 治療は無効であると報告しているがわれわれの実験はよくこれに一致した。この結果から見て現行の耐性判定規程に就いては一考を要するものと思われられる。第三の実験として黒野株の 0.01mg でマウスを感染し、SM・PAS・INAH 単独とそれ等の併用療法との場合の耐性を測定した。この場合 SM は毎日 500 γ を筋注、PAS は 15mg、INAH は 15 γ を飲料水にとかし、0.2cc 中に含む如くし、ゾンデにて経口的に与えた。治療は 50~110 日間行った。途中斃死したものはその時に、最後迄生存したものは終りに屠殺して培養した。その結果は単独治療の三者の中では PAS が最も耐性を獲得し難く、次いで INAH であった。SM では耐性が最も多く出現した。又併用療法では SM+PAS は両者に耐性の獲得なく、PAS+INAH では INAH に、INAH+SM は両者に耐性獲得が見られた。しかし併用療法により耐性獲得阻止の傾向が十分見られ、就中 SM+PAS が最も効果的であった。Williston, Wolinoky 等は実験動物に於ては SM+PAS の併用療法は耐性の出現を阻止出来ないと報告しているが、安田はマウス結核症に於て、SM・PAS・INAH の併用は耐性獲得阻止の傾向ありと報告し、三種併用が最も効果的で二種併用では SM 或は INAH に PAS を併用するのがよい結果を得たと述べている。われわれの実験も同様な成績を得た。

52. 血液寒天培地に依る結核菌の分離培養並びに薬剤耐性検査について

宇野久彌太 (國療大阪福泉園一所长奥村寛三)

結核菌の為の固型血液培地として、Bordet-Gengon 培地、占部・賀久培地等があるが、何れも組成や製法に於てやや複雑である。私は Tarshis の報告した血液寒天ペニシリン培地が、その組成や製法に於て、極めて簡易であるのに注目し、その組成に就て検討すると共に、喀痰中結核菌の分離培養並びに薬剤耐性検査に就て実験した。〔実験方法並びに実験成績〕先ず分離培養に就ては、Tarshis 培地の組成や製法を変える事に依り、菌液及び喀痰を使用して、岡・片倉培地、小川培地と比較した。菌液は人型菌 H₃₇Rv 株の生理的食塩水浮遊液を用い、又、喀痰はホモゲナイザーに依り均等化した後、アルカリ硫酸法、又は第三磷酸曹達法に依り前処置し、その 0.1cc 宛をそれぞれ、岡・片倉培地、小川培地並びに血液培地に定量培養した。尚、第三磷酸曹達法は、喀痰に対し、10% Na₃PO₄ 12H₂O 溶液を等量添加し、37°C に 1 時間放置する方法で、又、培養後は、毎週 1 回、これを観察、6 週を以て最終判定とした。培地組成の各々に就て検討した結果は、既に第 10 回近畿地方会に於て報告した如く、グリセリンを省き、味の素を 0.5% に加えた血液量 15% の血液培地が、最も経済的にして、培養

成績もすぐれていた。又、前処置法との関係を考慮する時、10% Na₃PO₄ 12H₂O 法に依る前処置喀痰の培養には、0.3% KH₂PO₄ 添加の Trashis 変法培地 (pH=6.4) が適していた。次に、この培地を使用しての患者喀痰の培養成績を、他の培地と比較する時、小川培地での集落数を 100% とした場合、その約 82% の集落数を示し、岡・片倉培地、原法培地の何れよりもすぐれていた。又、雑菌発生はやや多いが、結核菌の発育に影響する程度の雑菌は少く、又集落の発育は、他の何れの培地よりも早く認められた。次に、塗抹陰性喀痰からの培養陽性率を小川培地と比較すると、小川培地の 85.4% に対し、79.2% であって、推計学的に有意の差を認めない。尙この際、極めて僅かであるが、小川培地で多数の集落発育を認め乍ら、血液培地に全く発育の認められない例があり、又、その逆の例も認められた。次に、本変法培地が、その組成や製法が簡易であり、又、培養成績も小川培地に匹敵し、殊に集落発育の早い点から、結核菌の薬剤耐性検査に使用した。即ち、直接法には、0.3% KH₂PO₄ 添加の変法培地を、又、間接法には、0.1% KH₂PO₄ 添加の変法培地を使用し、何れも、基礎液を加熱滅菌後 55°C に冷却し、これにペニシリン加銀行血液を混合する際、SM、PAS 或いは INAH を所定の濃度に加えた。又、直接法では 10% Na₃PO₄ 12H₂O 法に依り喀痰を前処置し、間接法では小川培地に発育した集落より生理的食塩水に依る菌液を作製、何れもその 0.1cc 宛を定量培養した。尙、判定は、直接法では培養後 5 週間接法では同じく 4 週に行い、対照培地と同程度に発育した最高濃度を以て、耐性度とした。成績は、PAS の直接法に於て、血液培地での耐性例が少く、他は何れも小川培地と血液培地との間で、耐性例数に有意の差が認められなかった。但し、個々の例では、PAS の場合に血液培地で耐性度がやや低く、又、INAH の場合には血液培地で耐性度がやや高く出るように思われた。尙、INAH 耐性検査の場合、両培地で等しい耐性度を示した場合に於ても、血液培地の方で、耐性菌の集落発育がやや多く認められた。尙、この点に就ては、ヘミンが、INAH 耐性菌に対し、発育要素として働くとの、Fisher の報告があり、更に検討中である。〔結論〕Tarshis の血液寒天培地において、その血液量を 15% に減じ、グリセリンを省き、味の素及び KH₂PO₄ を添加した変法培地は、結核菌の分離培養に使用出来ると共に、その薬剤耐性検査に於ても、小川培地と同様に使用する事が出来、又、耐性判定の早く出来る事、INAH 耐性菌の発育が良好である事等の点で、鶏卵培地よりもすぐれている。又、その組成や製法が、極めて簡易であり、殊に、薬剤を添加後、再び加熱滅菌しない点に於て、好適と思われる。

53. 各種抗結核剤使用患者の喀痰中耐性結核菌出現状

況とその消長について

西村五郎（九大二内）川上景司・鈴木林（国療福寿園）
平石春義・池上四男・長浜良子（福寿園検査室）

ストマイ、パス、ヒドラジット使用患者の喀痰中耐性結核菌出現状況及びその推移について検討し次の成績を得た。(1)検査対象。入所患者中塗抹陽性者で SM20~100g 使用 131 例、PAS1~4 kg 使用 97 例、INAH 使用 10~40g、102 例である。(2)検査方法。直接法で各薬剤各々 1 γ 、10 γ 、100 γ を 3% 小川培地に加え同氏の定量培養法に準じて行い 6 週目に判定した。但し SM は力価の減弱を考慮して 3 倍量を加えた。(3)成績。(A) 耐性結核菌出現状況。1 γ 耐性菌は何れの抗結核剤でも全例の 60% 以上に認められ特に SM では 80% 以上であったが、完全耐性例は SM30%、PAS23%、INAH 6% に過ぎなかつた。10 γ の耐性菌は何れも全例の 30% 以上に認められたが完全耐性例は何れも 10% 以下であった。100 γ 耐性菌は SM で 20% PAS で 10%、INAH で 1% にみられたが完全耐性例は SM で 2% みられたのみで他は皆無であった。(B) 使用総量と耐性菌出現との関係 a) SM 使用量が少くても 10 γ 、100 γ などの高度耐性菌をかなり認めた。1 γ 耐性菌は 20~40g 使用例でも 65% 以上に認めた。使用量の増加とともに更に高率となっている。10 γ 耐性菌は 20~40g 使用例では 50% 以下となっているが、60g 以上使用したものでは出現例が特に増加するのが目立つ。100 γ 耐性菌は 20~90g 位の間では左程多くはみられなかつた。使用量の増加と共に対照コロニーの 50% 以上のコロニーを認める例が増加している。b) PAS1 γ 耐性菌は 1~2kg 位の使用量でもかなり高率に認められ、対照コロニーの 50% 以上のコロニーを認める例も割合多いが、対照コロニーの 50% 以上のコロニーを認める例はかなり少く、100 γ では認められなかつた。3~4kg 使用例は例数少く明かではなかつた。c) INAH。30~40g 使用例でも 10 γ 耐性菌の出現例はかえて少いようであった。20g 以上の使用例の多くは相当の期間の間隔を置いて投与されているので次に述べる耐性度の低下消失という事実と考えあわせて興味がある。C) 薬剤使用後の耐性の推移。薬剤使用後その薬剤を使用しなかつた例に就いて耐性の推移をみると SM1 γ 耐性菌に於ては 30 カ月、36 カ月を経て僅かに 1 例づつ消失したに過ぎず、大部分の例は耐性の消失を認めなかつた。且つ 2 年以上も殆んど耐性の低下しない例がかなり多かつた。SM 10 γ 耐性菌は 2 年以上経て消失した例を認めたが、殆んど変化のないものもあつた。100 γ 耐性菌は例数が少いが発生コロニーの少かつたものは 2 年以内に消失しているけれども、多いものは殆んど低下を認めなかつた。これに反して INAH では大部分の例に 1 年位で耐性の低下消失を認めた。PAS は例数少く明かな関係は見られなかつた。以上述べた耐性の低下乃至消失ということも、果して細菌の感

受性の復元を示すものであるか、耐性検査方法の誤差によるものかを検討することが重要と考える。第一に対照培地の発生コロニー数が少いときは耐性は著しく不定の成績となる。第二に同一患者を近接した間隔で検査してもその耐性度を示す成績は相当度差がある。この二つのことは直接法の誤差と共に考慮しなければならないことと思ひ頻回な検査の必要性を痛感する。

54. 結核菌の SM 耐性獲得の機序に関する研究

塩田憲三・津村拓・西岡渉・赤井昭（大阪市大小田内科）

〔緒言〕 現在行われている耐性検査法は、検査材料中の SM 耐性菌と、感受性菌の割合によって、ある程度影響されると考えられる。この事は柳沢氏の BCG についての実験や、同研究室の佐藤氏の実験等から伺われる。そこで Population に関連して次のように検討した。第 1 実験：同一母集落から得た単個菌の自然耐性に就いて。実験は鳥型菌を用いて行った。単個菌を得るには遠心法と辻氏ベンゼン法を用い、遠心法では鳥型菌の 1mg/cc の菌液を作り、1500 廻転で 5 分間遠心し、上清をとり再遠心、これを 3 回繰返して後の上清を原液とす。原液は検鏡で菌が個々に分離している事を確かめた後、十進法で 1 万倍に稀釈し、その 0.1cc を小川培地に培養すると、単個菌から発生した集落が個々に離れて発育する。これから 5 個の集落を別々に小川培地に増菌し、7 日後グリスリン寒天に植継ぎ、5 日目のものから 1mg/cc の菌液を作る。この 0.1cc を SM 含有小川培地に培養して自然耐性分布を検べこれを No.1~No.5 と命名した。辻氏ベンゼン法は同氏記載の方法に準じてベンゼン菌浮遊液を作り、その 1 白金耳を小川培地に拡げられるようにして塗ると個々に分離した集落を得る。以下増菌から自然耐性分布検査に到る過程は前記同様にこの集落を No.6~No.20 と命名した。成績：表 1 (略) は 2 本の試験管の平均値で示したが、同一母集落から得た単個菌集落でもその各々の間の自然耐性分布には若干の差があるように思われた。第 2 実験：前述の 2 方法で得た単個菌集落から 1mg/cc の菌液を作り、No.1~No.5 は 0.25 γ /cc SM 含有 Kirchner 培地に、No.6~No.20 は 0.1 γ /cc SM 含有 Albumin 非含有 Dubos 培地に植え、5~7 日目毎によく振盪混和後その 0.1cc を次の培地に植え、これを繰返し 5 代、10 代、20 代目の SM 耐性分布を SM 含有小川培地で検べた。No.1~No.5 の SM 耐性獲得状態は 5 代目では、No.5 が一番早く耐性を得ていたが、その差はあまり明瞭でなく 10 代目、20 代目ではその差は著明に認めた。(表、図略) No.6~No.20 については各単個菌集落の SM 耐性獲得の程度の差は、既に 5 代目に於ても明瞭に認められた。尚 No.1~No.5 と No.6~No.20 との間にその耐性獲得の早さに著明な差があるが、これは後者は表面活性剤 Tween 80 を含む為であろう。第 3 実験：以上の実験からわれわれは、同一母集落中の個

個の菌の間に差がある事を認め、柳沢氏の Population の考え方を肯定する様な成績を得た。次で結核患者の喀痰中結核菌の耐性の程度に動揺がある事を知っているの、これも耐性菌の Population と関連するのではないかと考えて次の実験を行った。実験方法：SM 耐性菌保有患者11名につき調べたが、3名は喀痰少量或は培養中 pilz が生じて成績から除外し8名につきしらべた。該患者の喀痰を1日のうち午前1時から8時迄、8時から午後4時まで、4時から午前1時迄別々に蓄痰しその耐性分布及び Viable Unit を調べたところ、完全耐性者5名では Viable Unit の動揺とは無関係に殆んど一定の値を示すが、これは当然の事と思つた。これに反し不完全耐性者3名中2名では Viable Unit の高い時は耐性が高く、Viable Unit の低い時は耐性が低い。これは前述の試験管内実験と考え合す時は、同一患者に於ける SM 耐性度の動揺は、必ずしも遺伝学的に耐性獲得或は復帰のみによらず単にその時、その時の喀痰中の耐性菌の Population に関係する場合もあり得ると考える。尙この事は更に例数を増して明瞭にしたいと考えている。(表略)[結語]われわれは耐性菌の Population に関連して実験し次の結果を得た。1. 同一母集落から得た単個菌の自然耐性分布をしらべたところ若干の差を認めた。2. 同一母集落から得た単個菌を別々に微量の SM 含有液体培地継代培養する事により、個々の菌の耐性獲得に遅速の差がある事を認めた。3. Kirchner 培地よりも Dubos 培地に植え継いだ方が耐性を早く獲得するようで、Dubos 培地は表面活性剤を含む故であろうと考える。4. 不完全耐性菌を喀出する結核患者に於いてはその喀痰中の菌の多寡によって、直接法で得られる耐性の程度の差が生ずる事を知り、これは結核患者の喀痰中結核菌の耐性が、日によって動揺する事のある事実の一つの説明となると考える。

〔追加〕松尾吉恭(広島大学細菌)

われわれの教室では、Film 培地を用いて抗結核剤に接したことの無い同一抗酸菌株の単個菌より娘株をえてその耐性分布をしらべた。SM では原株なみの感受性を示したもののほかに耐性度の高いものもあつたが、INAH ではなおその他に原株より感受性のつよいものもあつた。

55. 抗結核剤耐性機作の研究(第1報)

東村道雄・鈴木鏖三郎・君野徹三(国療大府荘一荘長勝沼六郎)

耐性機作研究の第1段階として、SM 及び INAH の耐性出現を阻止又は促進する物質を検索した。Mycobacterium avium 獣調株を用い、Souton 培地 (glutamate 代用) 培数稀釈法、10日毎継代の Graessle 法で4~6代継代して耐性上昇曲線を作つた。次の物質について濃度 1~100 γ /cc にわたって検討した。即ち sul-

fonamides, homosulfamine, PAS, neocidin (B. subtilis の産する抗生物質), tryptaflavin, picric acid, PABA, PNBA, POBA, p-nitrophenol, dinitrophenol, nitrobenzene, benzoic acid, aniline, vitamin B₁, pyridoxine, folic acid, riboflavine, niacine, methionine, adenosine, adenine, guanine, xanthine, hypoxanthine, uracil, Fe 欠乏条件等、この中で SM 耐性阻止に有効であつたのは sulfonamides, homosulfamine, neocidin, tryptaflavin (?), であり、INAH 耐性阻止に有効であつたのは sulfonamides, neocidin, riboflavine, などであつた。また何等かの作用を有すると思われるが明らかな結論を出し得なかつたものに、POBA, p-nitrophenol, dinitrophenol などがある。ここではこの中で特に sulfonamides の耐性阻止機作について検討した。Sauton 培地に sulfanilamide (SA) 又は suflaguanidine (SG) を 1 γ /cc 添加しても耐性阻止作用はなかつたが、sulfathiazole (ST), 6-sulfanilamide-2,4-dimethylpyrimidine (SD), 3,4-dimethyl-5-sulfonamide-isoxazole (SZ) を 1 γ /cc 添加すると耐性の阻止が起つた。これは一見異項環の影響が大いようにみえるが、これら sulfonamides の単独での阻止作用に差があるあるので、単独での最小阻止濃度の半量を使用すると、何れの sulfonamide でも耐性阻止が起つた。耐性阻止作用には sulfonamide の構造そのものが有効であり、且単独作用時の発育阻止作用が耐性阻止作用と密接な関係があることが分つた。以下 ST を代表として検討すると、ST 単独の最小阻止濃度は10日後観察で 1 γ /cc であり、ST 濃度 0.5 γ /cc では対照とほぼ同様の菌膜をつくる。しかし SM 又は INAH との併用では発育が若干遅延する。ST 0.1 γ /cc では単独でも併用でも殆んど影響がない。これらの ST 濃度の耐性阻止作用を観察すると 0.1 γ /cc では耐性阻止作用は認められないが、0.5 γ /cc では明かに耐性阻止が認められ、1 γ /cc ではより著明となる。そこで更に次の実験を行った。SM の場合3代目の培養で SM10 γ 迄菌が生育するが、この菌を植継ぐと4代目では SM 1万 γ 以上まで耐性菌が生育して来る。従つて3代目の SM10 γ /cc に生育した菌の中には SM 1万 γ /cc 以上の耐性菌(又は耐性菌を生ずべき菌)が含まれているわけである。ここで4代目の培地に ST 0.1 γ /cc を添加しても4代目では 625 γ 迄菌膜が出来る。しかし ST 0.5 γ /cc を添加すると4代目と同じく SM10 γ /cc までしか菌が生えない。INAH の場合でも耐性上昇曲線の上昇の著明な2代目の培地に ST を添加すると同様な現象が認められる。従つて ST の耐性阻止機作の一つとして、(A) SM 又は INAH と ST が共存すると、感性菌は SM 又は INAH により阻止され、少量の耐性菌がのこるが、この耐性菌も ST の阻止を受ける(ST の阻止作用は菌量が小であれば少量の ST で

起る)ということが考えられる。また (B)SM 又は INAH と ST の間には協同作用が認められるから、はじめの selection の濃度が低いということも耐性遅延の効果があると考えられる。SM 又は INAH 耐性菌と感性菌との間に、ST に対する感受性の差があるかどうかも機作として問題になるが、両者の感受性の差は今の処認め難いので、この可能性は少い。(C) SM 又は INAH に ST 1γ /cc を添加した時の生菌数 (viable counts) 当りの耐性菌出現率と、同濃度の SM 又は INAH 単独の場合の其とを、培養1代目の終り (10日後) に比較すると、SM 0.04 γ /cc 中に生育した菌の生菌数 10^6 当りの SM 1γ 耐性菌数は前者 178, 後者約 5,000 であって ST 添加例で著しく少ない。INAH の場合も 0.32 γ /cc 中に生育した菌の生菌数 10^7 当りの INAH 10γ 耐性菌数は前者 55, 後者 377 であって ST 添加例で少なかった。これは重要な耐性阻止機作と考えられる。(D)以上の ST の耐性出現阻止作用は PABA の添加で殆んど完全に消失する。従って PABA の利用阻害、即ち purines 合成乃至核酸合成障碍が ST の耐性出現阻止作用の機作として考えられる。結論として上述の機作 A, B, C, 特に A と C とが sulfonamides の耐性阻止機作として主役を演じていると考える。そしてこの耐性阻止作用は RABA の利用阻害、即ち菌酸の生合成阻害と関係しているものとする。

56. 結核菌の SM に対する耐性獲得の機構

堀三津夫・吉川正吾・伊藤和夫・横井正照 (阪大微研竹尾結研 II 科)

細菌が薬剤に対して耐性を獲得する機構については、現在 spontaneous Mutation (Selection) と induced Mutation (Adaptation) との二つの学説が対立しているが、私達は結核菌の SM に対する耐性獲得の機構がそれ等の何れが大きい Factor であるかを検討すべく目下実験中であるが、いささか知見を得たので中間報告としてここに報告する。あらかじめ Sauton 培地に 48~72 時間表面培養をした鳥型結核菌竹尾株 (以下単に菌と略称する) の SM に対する耐性度の Deviation を 20 回に亘って調べたが、SM の 1γ /cc に対して 5~6% に耐性菌が現われているが、本実験には SM 1γ /cc に対して感受性を有する菌を用いた。実験 I : none treated cell を種々の液に 10mg/cc 宛接種して振盪器に入れ、37°C に於て SM 100γ /cc と共に 5 時間振盪後、それぞれの液を原液として 10^5 倍に稀釈した菌液を作り、又一方 SM を種々の濃度に加えたブイヨン寒天培地に前記菌液を 0.5cc 宛混じて平板培養を行い、SM に対する耐性菌の有無を検討したが、 $\frac{1}{50}$ M 磷酸緩衝液に葡萄糖を添加した場合には SM の 1γ , 10γ , 100γ , 1000γ に対して耐性菌を認めた。実験 II : washed cell (in Ag. dest.) を使用して前記同様の実験を行ったところ、矢張葡萄糖

を添加した場合に耐性菌を認めた。実験 III : starved (in Phosphate Buffer), aged, and washed cell を使用して前記磷酸緩衝液に A.T.P., Glutamic Acid 及び両者の Coupling をさせて添加すると何れの場合でも耐性菌が現われるが、両者の Coupling をさせた場合がより多く出現する。実験 IV : 滅菌蒸溜水 (pH 6.2~6.4) により starved, aged and washed cell とした場合に耐性菌が現われない。実験 V : starved (in $\frac{1}{50}$ M Phosphate Buffer with Glutamic Acid 10^{-5} M/cc) and Washed cell の場合はやはり A.T.P. 或いは Glutamic Acid を添加した磷酸緩衝液で耐性菌が現われ、両者の Coupling をさせた場合はより多く出現する。以上の全実験を通じて、菌と SM とを作用させないと耐性菌の出現は勿論認められなかった。上記の実験に於て、各種溶液を用いて 37°C で 5 時間振盪後、SM を全く含有しない対照培地に於ける Viable Unit と振盪前のそれとを比較すると菌は増殖していないように思われるが、この点を更に明らかにするため Film 培地を用いて菌が分裂を開始する迄の時間を測定した。即ち Sauton 培地に 72 時間表面培養をした菌をそのまま、或いは前記磷酸緩衝液により starved, aged and washed cell とした状態で各種溶液中に於て分裂する迄の時間は、最も条件の良い場合、即ち none treated cell で 7% 家兔血清加 Kirchner 培地の場合でも 5~8 時間であり、同じ培地で starved, aged and washed cell の場合はやや後れて 7~10 時間であり、尚 SM を添加した培地では何れも 48 時間以内には分裂しなかった。以上により、結核菌の SM に対する耐性獲得の機構に spontaneous Mutation (Selection) を否定するものではないが、induced Mutation (Adaptation) が大きな Factor のように思われる。又 SM に対する耐性獲得の機構が、アミノ酸代謝即ち蛋白代謝に関係するように思われるから、今後この方面にも実験を進めるつもりである。

〔質問〕 東村道雄 (国療大府荘)

結局今の実験は、mutagenic effect の条件ということになるのではないか (SM 接触後に counts を数えるために増菌させているので、mutagenic effect によると考えても説明できるから、adaption (現在の定義) の可能性ということは、mutagenic effect を除外しなければ考えられないと思われる)

〔解答〕

お目にかけました実験成績から私共は鳥型結核菌竹尾株の SM に対する耐性獲得の機構として Induced Mutation が大きな因子であろうと考える。その理由は ① SM を作用させている間の結核菌の増殖は否定しうること。② 培養とという条件では対照も同じ条件であるが耐性菌の出現が認められないこと。しかしながらこのよう

な実験のもつ共通的なまた現在ではやむをえない欠点として耐性菌の証明を培養法によっていることであり、今後は耐性菌を培養によらずに証明しようような方法の検討が必要である。

〔質問〕 牛場大蔵（慶大細菌）

われわれは Mycob, 607 を用いて Glucose-buffer 中で同様実験を数回くり返したが、耐性菌の出現、増加は認められなかった。分裂開始時期を出現した耐性菌を用いて行われたか。また出現耐性菌の生物学的性状は原株と差がないか。

〔回答〕 牛場教授へ第1の質問に対して：分裂開始の時間を測定した菌は SM 感受性のソートン培地に培養した菌の、単なる菌液及び所謂休止菌の菌液である。第2の質問に対して：このようにしてえられた耐性菌の生物学的性状についてはまだ詳しくは検査しておらない。

57. 結核菌の SM 耐性獲得の動的考察

簇野脩一・岡野正光・村尾誠（東大美甘内科）

われわれは、有毒人型結核菌 $H_{37}Rv$ を使用し、SM と連続接触及び間歇接触させて培養し、又緩衝液中で接触させて、菌数と耐性発現状況とを各々4週に亘り追跡した。〔実験方法〕 SM はすべて DHSM 使用。平底コルペンの容量 100~200cc のものに 19~24cc の Dubos 培地或は緩衝液を入れ、培養1週目の菌液 1cc を加えた。1日1回振盪して、菌の分散と好氣的条件とを保持した。間歇接触は、週2回濃度 1 γ /cc となるように SM を加え、24時間接触させた後、4000r.p.m. 30分遠心、上清をすて、等量の培養液を加え SM を洗い、再び遠心し、沈んだ菌を新しい Dubos 培地へ移した。尚雑菌を防ぐためにペニシリン 50~100 μ /cc を加えた。緩衝液中接触には、菌を pH 6.4 の緩衝液で3回洗滌後、アルブミン加磷酸緩衝液へ移した。菌数計算、耐性検査には、コルペンから取った菌液から、10倍稀釈系列を作り、各々から 0.05cc を取って、アスパラギン、硫酸、クエン酸ソーダを加えた1%小川培地変法へ流す。8週迄に生えた集落数を毎週読み、最大に数えられた数を取り、且誤差を少なくする為に、集落数が2桁程度のものを用いて逆算した。〔実験成績〕 1. 接触 SM 濃度：比濁法によって調べた。0.05 γ /cc では殆ど増殖に影響がない。0.5 γ /cc では殆ど増殖を許さない。実験には更に幅をもたせた 0.03 γ /cc と 1 γ /cc とを使用した。2. SM の安定性：band method で検討した。コルペンで4週後、試験管で6週後に7割程度の濃縮をみたが、蒸発水分を補えば殆ど不変であり、われわれの実験では SM の濃度変化は無視してよい。3. 連続接触：対照群と 0.03 γ 群とは 3 $\times 10^6$ /cc から 5 $\times 10^6$ /cc に達し、4組とも増殖状況に差を認めない。1 γ 群は 10~15日頃 10 2 ~10 3 /cc で最低に達し、その後、分裂時間 20 時間程度で急激に増殖し、10 7 /cc 程になる。同じ Dubos 培地によって耐性の推移

をみると、対照群と 0.03 γ 群とは共に上昇しないが後者で高耐性菌出現頻度が高い。1 γ 群は菌数が最低に達してから増殖が始まった 15~18日目にも 1 γ 完全耐性を示さない。即ち 1 γ 耐性菌の選択は明かでない。そして 24~28日頃には4組すべて 100 γ 耐性を示した。従って 100 γ 耐性菌の増殖は非常に速いことになる。詳しく耐性分布をみた次の実験では初めの菌数が 10 6 /cc で多かった為か、1 γ 接触菌は2週頃既に増殖を開始し、その中で 100 γ 耐性菌は1週には 0.1~0.3%、4週には 5~30% を占め分裂時間は 20~30 時間。一方対照は 100 γ 耐性菌は 10 $^{-7}$ 以下、1 γ 耐性菌は 10 $^{-4}$ で終始不変。以上2回とも 1 γ 接触は 100 γ 耐性菌を急速に生じた。次に菌数 10 6 /cc で出発した実験では 1 γ 耐性菌の選択が進んだが、100 γ 耐性菌は発生しなかった。即ち菌量が高耐性菌出現を左右するようで突然変異説に有利であるが、急速な高耐性菌発生、微量 SM の影響等は SM の変異誘導作用を想定させる。4. 間歇接触：総菌数の変化は僅かであった。1 γ 耐性菌は 10 $^{-4}$ から 10 $^{-1}$ 程度に選択的増殖を遂げる。100 γ 耐性菌は 10 $^{-7}$ 以下から 10 $^{-5}$ とふえたが、連続接触の場合のように急激な発生はみられない。5. 緩衝液中での接触：増殖できないこの条件では耐性変化は起らない。菌数は8週後に、対照は 10 $^{-1}$ 、SM 1 γ は接触では 10 $^{-2}$ に減少するが Tween を含まないから凝集により見掛上減少しているとも思われ、SM の効果も明かでない。〔結語〕 有毒人型結核菌 $H_{37}Rv$ を、SM を含む Dubos 培地及び磷酸緩衝液に4週間接触させ、その間の菌数及び耐性の変化を追跡して次の結果を得た。1. SM は単に静的に働くのみでなく、菌を消耗死滅させる。この作用は磷酸緩衝液中では認められない。2. 磷酸緩衝液中では SM と接触しても耐性上昇は起らなかった。3. 1 γ /cc 間歇接触では、1 γ 耐性菌の選択的増殖をみた。高耐性菌の増殖は著しくない。4. 1 γ /cc 連続接触の下では、菌数 10 6 以上の場合、急速に菌の大部分が高耐性菌で占められる。菌数 10 7 程度では、この高耐性菌の出現は起らなかった。この高耐性は安定であり遺伝される。増殖を障害しない 0.03 γ /cc 連続接触では、対照より高耐性菌の出現頻度が高かった。5. 以上の成績は、突然変異説で一元的に解釈できると思われるが、SM の変異誘導作用も否定できない。

58. Mycobacterium の SM および INAH 耐性獲得の機序と形成

後藤敏夫・清水邦彦・渡口精吉・坂本光弘（国病相模原内科）

われわれは Mycobacterium の SM および INAH に対する耐性獲得機序、とくに薬剤に誘導作用があるかどうかを検討し、又同時に SM および INAH の耐性獲得形式の差異と耐性獲得阻止の状況を検討するために、Myc.607 を用いていわゆる Resting cell および恒

量的継代法による実験を行った。〔実験方法〕1) いわゆる Resting cell は菌液を pH 7.0 の磷酸緩衝液で 3 回洗滌してから SM 又は INAH を加えて 4°C 或は 37°C に放置し、3 日、7 日、14 日目に取り出して緩衝液で 1 回洗滌した後、1% グリセリン寒天平板を用い耐性分布を測定して対照し比較した。2) 恒量的継代法は菌液 0.2mg を薬剤を加えた 1% グリセリンブイオンに接種し、3 日目ごとに植えつきして 20~30 代継代を行った。この間 5 代毎にグリセリン寒天平板を用いて耐性分布を測定した。〔実験成績〕Resting cell における SM の場合、4°C では 0.5 γ /cc、5 γ /cc 共に耐性の上昇はなかったが、37°C では 0.5 γ /cc で生菌数の減少と耐性の上昇を認め、5 γ /cc ではさらに生菌数は減少し又殆ど完全耐性を示した。この場合磷酸緩衝液で洗滌後 37°C の孵卵器に 24 時間放置し再び 3 回洗滌を繰返して飢餓の状態としてから行っても全く同様に生菌数の減少と耐性上昇を認めた。INAH の場合は 4°C でも 37°C でも 5 γ /cc 50 γ /cc 共に生菌数の減少耐性の上昇はなかった。Resting cell の試験管中の菌量は 10mg であるので同量をグリセリンブイオンに培養し又 2mg で寒天上集落計算による耐性分布を検べたところ、SM の場合行った最高濃度の 1,000 γ /cc 以上に発育を認めた、INAH の場合は 1,000 γ /cc までの発育を示した。恒量的継代法における SM 感受性の推移は発育阻止作用の殆どない 0.05 γ /cc では 30 代後も耐性上昇はなかったが、やや発育阻止作用のある 0.2 γ /cc では 5 代ですでに 1,000 γ /cc の完全耐性を示した。INAH では発育阻止作用の殆どない 0.5 γ /cc では 30 代後も耐性上昇はなかったが、やや発育阻止作用のある 2 γ /cc では 5 代で中間耐性菌の増多を認めた。然し 30 代まではほぼ同様で完全高耐性とはならなかった。恒量的継代法の場合に微量のしかも協力作用のない濃度の他の薬剤を併用して耐性獲得阻止の状況を検べた。SM の場合 0.2 γ /cc 単独ではさきの如く完全高耐性を示した。然るにこのものに INAH を最小発育阻止濃度の 1/20 量 (1 γ /cc) 1/200 量 (0.1 γ /cc) 或は硫酸カドミウムを発育阻止濃度の 1/25 量 (2 γ /cc) 加えた時には中間耐性菌の増多は認められたが、20 代に至るまで遂に完全高耐性とはならなかった。INAH の場合 2 γ /cc 単独ではさきの如く中間耐性菌の増多を示したが、このものに SM を発育阻止濃度の 1/12 量 (0.1 γ /cc) 1/120 量 (0.01 γ /cc) 或は硫酸カドミウム 2 γ /cc 加えた時にもほぼ同様な中間耐性菌の増多を認めた。かくて、Resting cell の実験において、SM 37°C の場合の成績のみは一見 SM の誘導作用を認める様にもみえるが、この場合菌が著しく殺されているのでその死菌の成分を栄養素にはじめから存在していた高度耐性菌が選択的に増殖するものと考えられ、これに反して、INAH の場合は菌が殺されないために耐性菌の増殖もないとも考えられた。従って

上記の SM 37°C の場合には真の Resting cell の状態となりえず、耐性菌は増殖しうるものと考えれば、本菌の SM 耐性獲得は選択作用のみによって十分に説明できるので、必ずしも誘導作用を認める必要がないように思われる。さらに、恒量的継代法による実験で、発育阻止作用のある SM 濃度に対しては、本菌は 5 代で高度完全耐性となったが、同じ INAH 濃度に対しては 30 代までも中間耐性菌の増加を認めたとに過ぎないので、本菌の SM と INAH に対する耐性獲得の形式には差異があるように思われるが、これについてはなお研究を続けたい。なお、恒量的継代法の場合他の薬剤の併用を行った所、SM 高度完全耐性獲得は INAH の併用によって抑えられたが(この際中間耐性は阻止されない)、INAH 中間耐性獲得は SM の併用によって抑えられない結果であった。このことは高度完全耐性獲得と中間耐性獲得とがその獲得機序に関して異なるものであることを示唆する。

59. 薬剤耐性の研究 (第 2 報) SM, INAH の耐性獲得並びに耐性の消失低下について

安淵義男・高田範男・脇田政美 (國療春霞園一所长 工藤敏夫)

今回は有空洞性重症肺結核症例 76 例を選び、その耐性獲得並びに消失、低下について報告する。かかる症例に於ける耐性測定値はすこぶる labil であり、1~2 回の測定値の相違を以て直ちに耐性の変化と見なすことは甚だ危険である。故に、喀痰は畜痰したものをを用い、殊に耐性変動を示した症例に於いては再三の測定により可及的正確を期した。〔実験方法〕測定方法は 3% 小川培地直接法により、SM の含有は厚生省指針に従った。尙基礎実験には鳥型結核菌竹尾株を使用し、培地はすべてグリセリン寒天培地を用いた。〔実験成績〕有空洞性重症症例では、SM の不規則使用により高度の耐性菌を生じるのは当然であるが、一方、SM 80g 以上の使用にても 4 例の耐性の低い症例があった。これは全く耐性上昇を来さなかったのか、或いは過去の耐性が消失乃至は低下したものか不明であるが興味ある事実である。又吾々は 20 例に対して SM 間歇 PAS 毎日の併用方法を実施しても尙高度の耐性菌を生じた。殊に己に或る程度の耐性を有する 2 症例は耐性獲得が速かで且高度であったがこの事は注目に価する。SM 耐性の低下: SM 耐性例 56 例の耐性の変動を 6~15 ヶ月に亘り追求した。臨床耐性低下を来したと思われる症例は 10 例であり、病巣切除例の術前との耐性の相違は病巣別耐性の相違によると考えられる。Sulfathiazol による SM 耐性の変化: 吾々は臨床的に Sulzol S を SM 耐性患者に使用し、耐性変化を追求した。160 本使用後 18 例中耐性低下を示した者 5 例である。又、SM 間歇 Sulzol S 毎日使用後 SM 耐性の検査では、3 例に速かな耐性上昇を来し 2 例に上昇を示さ

なかったが、Sulzol S との併用が耐性獲得阻止に役立つか否かは疑問であり、推奨すべき方法ではない。INAH 耐性の変化：INAH 耐性31例の耐性変動を 6～15 カ月に亘り追求した。その間に他の抗結核剤を使用したと否とに拘らず、完全耐性の消失10例、低下11例、不変3例残り7例は不完全耐性のみ消失乃至低下を示した。次に SM, INAH 両者耐性の変動は、SM 耐性低下10例中 INAH 耐性上昇を来したもの6例、逆に INAH 耐性の上昇に伴い SM 耐性の下降を示したもの13例中6例であり、INAH 耐性の変動に伴い SM 耐性が必ずしも変化を来すとは限らない。基礎実験：鳥型結核菌を SM 及び INAH 含有培地に継代培養する事による耐性の上昇は、SM に対しては容易に 10,000 γ 以上の上昇を呈するも、INAH は 2000 γ 以上の耐性獲得は容易でなく、INAH 耐性菌の発育力の不良なる事を示した。次に耐性菌を薬剤を含まない培地に継代培養し、その耐性変動を観察した。INAH 不完全耐性 10 γ , 100 γ , 1000 γ の菌株はどれも5代より低下し始め、1000 γ は10代後に1000 γ (—), 100 γ は15代後に100 γ (—)となった。これら不完全耐性の変化に対し、全菌中に全く感性菌の混入していない純粋なる完全耐性は 10 γ , 100 γ , INAH 耐性は、SM 完全耐性 1000 γ , PAS 完全耐性 100 γ と同様に15代継代培養後も毫も低下傾向を示さない。次に INAH 完全耐性 1000 γ 及び 1 γ の 10mg 菌液を等量混和してそれを継代培養したところ、1代後に早くも耐性変動をみとめ、7代後には完全耐性は 10 γ を示した。同様に行った完全耐性 1000 γ , 1 γ の混合菌群では、7代後にも全く動揺をみとめず、相変わらず 1000 γ の耐性を示した。〔総括並びに考察〕結核菌に対する化学療法剤の耐性獲得阻止に関しては未だ確実な方法はなく、又獲得された耐性が再び元の感性に復帰するか否かについても未だ結論が出ていない。試験管内実験に於いて鳥型結核菌 INAH 不完全耐性の動揺は INAH 耐性菌の発育力の不良の事より考え、耐性菌が感性菌の発育に圧倒されて見掛け上の耐性低下を示したものであると考える。耐性菌と感性菌の発育力に著明なる差のない SM 耐性菌はさきに述べた如き混合菌群の継代培養を行うも耐性値は高度の方の値を持続する。以上総括すると、① SM 間歇 PAS 毎日の併用も尚高度耐性菌を生じるが、一方 SM 80g 以上の不規則使用にても殆んど耐性を有しない少数例をみとめる。②臨床的に Sulfathiazol は SM 耐性獲得阻止感性復帰に著明なる効果を示さない。③ SM 耐性と INAH 耐性の変化には特別な関係はない。④ SM 耐性低下は少数であるが、INAH 耐性は大多数に見掛け上の低下をみとめる。⑤ SM, INAH, PAS 完全耐性鳥型結核菌は継代培養15代後も耐性に動揺なく、INAH 不完全耐性は5代後に低下をみとめる。⑥ INAH 高度耐性菌と軽度耐性菌との混合菌群では継代1代に著明なる

耐性の変動をみとめるが、SM の場合は7代後にも全く動揺を来さず高度耐性菌の値を示している。

60. 薬剤耐性結核菌によるツベルクリン及び多糖類の産生並びにそれら物質の化学的、生物学的特性 木下彌栄 (金大日置内科一主任日置陸奥夫)

人型菌 H₃₇Rv のストマイ耐性 (1000 γ /ml), パス耐性 (100 γ /ml), ヒドラリト耐性 (100 γ /ml), ストマイ (1000 γ /ml), ヒドラリト (100 γ /ml) 耐性諸株を Sauton 合成培地に培養し、煮沸濾過液より Seibert の限外濾過法を踏襲してツ蛋白、所謂多糖類を製し、その収量を比較するに、両成分の収量は菌株により又耐性変異菌により異なる。一例を示すに、H₂ 株からはツ蛋白は 400～500mg/l で一方 H₃₇Rv 株からは 70～135mg/l の収量が得られる。実験に使用した菌は H₃₇Rv の耐性変異菌であり、それと感受性原株よりのツ蛋白の収量とを比較するに、SM 耐性に多い。PAS 耐性も多いが SM 耐性より少い。これと比較して SM 耐性 SM 添加培養したものは充分なる発育の条件にも拘わらず非常に少い。INAH 耐性は SM・INAH 耐性と同様に少くして原株と同じく、SM 耐性と H₂ 株とは大体同じである。多糖類はすべて原株と余り変らず豊富に得られたが、SM・INAH 耐性では少なかった。又原株よりツ蛋白の多く得られた SM 耐性、PAS 耐性には多糖類は比較的になかった。電気泳動的に大抵の多糖類は易動度殆んど 0 に近い単一な鋭い綺麗な峰を形成したが SM・INAH 耐性には核酸 (16%) と思われる易動度の早い峰が存した。なおここで得られた蛋白は Seibert の C 蛋白に相当したが、SM 耐性、PAS 耐性、INAH 耐性のツ蛋白は原株のそれと同じ易動度で、主成分より易動度の大きい核酸と易動度 0 に近い多糖類を含有した。耐性の主成分に二つの峰のあるのは易動度の近い二種の蛋白があるものと思される。これ等ツ蛋白の化学的分析の結果はその N 含有量が 14.3～14.9% (Micro-Kjeldahl 法) で変りは殆んどなかった。多糖類を Carbazol 反応により、核酸を Dishe の dephenylamine 反応を更に適用して測定したところ、原株の加熱培養液からのツ蛋白には 6.0% の多糖類と 4.3% の核酸を証明したが、SM・INAH 耐性、INAH 耐性に於ては原株よりの少量の多糖類を証した。SM 耐性、PAS 耐性株のそれは殆んど変らなかった。SM 耐性 SM 添加培養したものでは 19.8% の多量を証した。核酸は SM 耐性 SM 添加培養せるものに於て少く、SM・INAH 耐性に於て多く、後者では殆んどその半量位に相当するものが証明された。次いでツ蛋白中 2600A° で最大の吸光度を示す核酸部分を分光化学的に測定し、その価の化学的測定によく一致するものあるを認めた。生物学的には、先づツ皮内反応に於て BCG 非接種者に 0.2 γ を用い、原株と殆んど変らない力価を有する事を認めたが、0.1 γ

を使用して SM 耐性株のそれよりやや低い事を知った。SM-INAH 耐性に於ては半量も核酸を含めるにかかわらず力価は感受性原株よりのツ蛋白の力価と等しかった。BCG 接種者に対しては精製ツベルクリンの力価は一般に弱いとされており、原株では 0.2 γ , 0.1 γ で Ratio はそれぞれ 0.63, 0.59 であったが、耐性菌より得られたツ蛋白は一般に幾分高い力価を示した。併しこれは被検対象の差異によったかも知れない。多糖類に関しては Middlebrook-Dubos 血液凝集反応に於て特に SM-INAH 耐性株のそれが抗原として力の弱いことに注目した。

61. 薬剤耐性結核菌の一、二の酵素作用について

貝田勝美・杉山浩太郎・古賀行雄・中溝利幸（九大結研）

われわれは各種薬剤耐性菌のカタラーゼ作用及びウレアーゼ作用に就いて実験し、又 INAH の結核菌カタラーゼに及ぼす影響に就いて検討した。カタラーゼ定性に就いて——九大結研に於て患者喀痰から分離培養後 5~6 代を経た耐性菌並に標準菌計 192 株（岡・片倉培地四週培養）に就いて、スライド法（発泡法）によりカタラーゼを定性、INAH 耐性菌 22 株中陽性株は僅に 2 株他は全部陰性であった。併し、この陰性株は培地中の INAH の影響によるものではないかと考えられるが、INAH を含有しない岡・片倉培地と含有せる培地に分離培養してその菌に就いて検討したところ、13 株中含有せる培地の場合陽性株 1 株、含有しない培地の場合陽性株 2 株を得た。従って大体に於て、INAH 耐性菌のカタラーゼの欠除は、その本質的な性状の一つであると考えられる。カタラーゼの定量に就いて——供試菌株は定性に用いたもの一部で、定量法は Euler Josephson 法によった。感受性菌株 6 株、SM 耐性菌株 8 株、PAS 耐性菌 INAH 耐性菌それぞれ 6 株、TB₁ 耐性菌株 4 株を定量して見ると、INAH 耐性菌は 5 株が陰性、1 株に微量のカタラーゼを証明した。SM 耐性菌は感受性菌株に比してやや劣っていた。INAH 耐性菌のカタラーゼ作用の陰性化は、その菌体の細胞膜の H₂O₂ 透過性が低下し、カタラーゼを菌体内部に含有していても、反応を起す事が出来ないのではないかという疑問も一部には成り立つものと考えられる。次の実験はその様な疑問を氷解したものと思う。則ち、感受性菌株 2 株、INAH 耐性菌株 2 株（内 1 株は微量のカタラーゼを含有する）を、アセトンにて脱脂、菌体を破壊して無細胞粗酵素液として抽出し、その抽出液に就いて定量した。則ち各株共生菌、アセトン脱脂菌、粗酵素液に就いて、そのカタラーゼ量を比較して見ると、その何れもが、INAH 耐性菌はカタラーゼが欠除しているか、或は感受性菌に比して非常に微量であり、発泡法に於ても同様の結果を得た。この事は、INAH 耐性菌カタラーゼが、細胞膜とは無

関係に、確実に欠除しているか或は減弱しているものと考ええる。一般に抗結核剤（SM, PAS, TB₁, INAH）は結核菌カタラーゼに対して阻害作用を示すものと考ええる。ソートン培地上の H₃₇Rv 株、H₂ 株の菌膜を前述の薬剤の 1000 γ /cc 溶液に浸し、各週毎にとり出して良く水洗しカタラーゼを定量して見ると、INAH 浸漬菌は 1 週目より既にカタラーゼの欠除していることを知った。対照として、生理的食塩水浸漬菌を用いたが、生理的食塩水に比し、INAH 以外の薬剤も若干阻害作用を示した。INAH の完全な阻害作用は、むしろ菌を融解死滅させる為に起ったのではないかとも考えられるが、浸漬菌の生菌単位を測定して見ると、対照よりも発育は弱いと確実に生きている事が判った。又結核菌のカタラーゼを定量する場合に、基質溶液に一定量の INAH を加える事により、短時間内に作用する INAH の影響を見る事が出来る。この方法で、生菌（人 F 菌）粗酵素液（H₃₇Rv 株より抽出）に就いて検討して見ると、生菌の場合、INAH の最終濃度 1 γ /cc では影響なく、10 γ 以下で若干阻害作用が見られ、100 γ /cc ではカタラーゼ量は約 2/3 に減少している事が判った。粗酵素液でも略同様の結果を得たが、1 γ /cc でも僅に阻害した。抗酸性菌のウレアーゼ作用に就いては、最近では Cysner Singer が報告しているが、ネスレルにより簡単にウレアーゼを検出している。われわれは、戸田氏が行ったリトマス試験紙法及び、ネスレルを用いて、耐性菌に就いて比較検討して見た。則ち 1% 尿素液 10cc に、10mg の菌を浮遊せしめ赤のリトマス綿栓と共に封臘し、室温に放置して毎日その青変するのを見た。又別に、その 1cc 宛を小試験管に移し、ネスレル試薬を 1 滴づつ落して、アムモニヤの検出を試みた。その結果、感受性菌は、24 時間目には既に疑陽性で、48 時間目には、アムモニヤの発生するのを見たが、耐性菌は、アムモニヤの発生は相当日数遅延した。この事は、耐性菌が感受性菌に比してウレアーゼ作用の弱い事を示すものと考えられるが、結論的に述べるには、更に多くの例数に就いて検討し、定量的な操作を加える必要があると思う。〔結論〕① INAH 耐性菌株の大多数は、カタラーゼが欠除し、一部は微量に含有している事を知った。② 4 種の抗結核剤は何れも結核菌カタラーゼ作用を阻害し、特に INAH は著しい。③ 耐性菌はウレアーゼ作用が弱化している傾向にあるが、今後の検討を待つ必要がある。

62. 外科的結核材料及び切除肺よりの抗酸菌の検出とそれらよりの抽出液の結核菌の発育に及ぼす影響 占部薫・桑尾重大（広大結研）

私共は昭和 26 年以来、外科的結核材料の細菌学的研究を行い、非抗酸性型菌出現の様相とか、病的組織抽出液の結核菌の発育に及ぼす影響とかの検討を行う傍ら、切除肺の細菌学的観察をも続行して来たが、非抗酸性型菌

出現の頻度に関しては、すでに報告したので、その他の今日迄に得られた成績について、概略を報告する。1. 被検材料：被検材料は24例の切除肺を含む54例の所謂外科的結核であった。切除肺中病巣部17例は肉眼的に明らかに空洞・被包乾酪巣・結核腫等の結核性病巣をもったものであり、非病巣部7例は肉眼的には、結核性病変を認め得なかつたものであった。2. 各材料の塗抹・培養成績の相互関係：直接塗抹並びに、占部の迅速アルカリ中和法を施した沈渣の塗抹標本に抗酸菌染色法を施し、且岡・片倉培地、Kirchner 培地及び前者よりGlycerin を、又後者より Serum を控除した計4種の培地に培養を行った。この成績で塗抹・培養共に陽性例は滲出液4例（関節結核2，肋膜炎2）中にはなく、その他の材料では何れも陽性例が見られた。最近俄かに関心を高めて来た塗抹陽性・培養陰性例は滲出液及び膿（寒性膿瘍7）に於てはなく、結核臓器9例（腎臓結核4，副腎丸結核4，腹壁結核1）中1例（11.1%）、頸部リンパ腺結核10例中3例（30%）、切除肺病巣部17例中3例（17.6%）に証明され、Hohn, Dimtza 等の成績を裏書きするような結果を得た。尙之とは反対の塗抹陰性・培養陽性の例は結核臓器9例中2例（22.2%）結核リンパ腺10例中2例（20%）、及び切除肺病巣部17例中2例（11.8%）に認められた。次に塗抹・培養何れも陰性の例は滲出液及び切除肺非病巣部の全例がそうであったが、膿ではそのような例に比して、両者陽性の例が2倍乃至それ以上多かつた。3. 切除肺病巣の種類と塗抹・培養成績との相互関係：次に切除肺病巣の開放性か、閉鎖性かによる成績差については塗抹陽性・培養陰性の例は、空洞又はその他の病巣の何れにあつても、開放性病巣に於てより多かつた。4. 化学療法と切除肺病巣の細菌学的所見との関係：これについては例数が多くないので確かなことは言えぬが、塗抹陽性・培養陰性の例は、SM, PAS 併用群に於て投与期間の長いものが、短いものよりも多少共より多いように思われた。5. 結核組織抽出液の結核菌の発育に及ぼす影響：結核性滲出液はそのままで、又膿では遠心沈澱した上清を、更にその他の結核組織材料では、Homogenizer で塵砕したものにつき、1mg2ccの割合に生理的食塩水を加えて、2昼夜冷室内で抽出後、遠心沈澱した上清を、Seitz 型濾過器で濾過しその濾液を、又切除肺については 1gm2cc の割合に50%酸性アルコールを加えて、7昼夜冷室内で抽出したものを遠心沈澱し、濾過後中和した上清を、それぞれ Kirchner Sy-ser 培地に1%, 5%, 10%の割合に加え、人型結核菌F株の 1mg/cc の平等浮遊菌液1滴宛を移植して、4週間にわたり培養観察した。その結果、切除肺病巣部よりの抽出液は17例中抑制9例（52.9%）であつたのに対し、切除肺の非病巣部よりの抽出液では、6例中僅かに1例（16.7%）のみに抑制作用が認められ、他の多くは

結核菌の発育に何ら影響を与えなかつた。その他の結核材料即ち、滲出液・膿・リンパ腺・結核臓器よりの抽出液でも50~85%の高率に於て抑制作用を示した。そこで私共は結核材料抽出液のこのような結核菌発育抑制作用が、化学療法剤の作用と相まって、病巣部の抗酸菌塗抹陽性・培養陰性と言う奇異な現象に多少ともつながりを持つものではないかと考える。

63. 切除肺に於ける結核菌検索（第2報）

山本正俊（国療福岡・九大細菌）

切除肺に於ける結核菌の動態については、既に第1報にて報告したが、その後例数を重ね今回は100例の切除肺についての成績を述べる。X線分類は之を断層所見を含めて且つ経過を考慮して四型に分つた。第一型小病巣集合群10例、第二型結核腫18例、第三型濃縮空洞22例、第四型空洞50例である。総計100例の術前喀痰の結核菌所見（6カ月間）は塗抹54例、培養65例に陽性である。その切除肺主病巣内結核菌所見は塗抹陽性91例、培養陽性77例である。これを各型別に見ると、一、二、三型は何れも、喀痰の陽性率は、塗抹及び培養共低率（20~40%）であるが、四型では殆んどが陽性であつた。切除主病巣内菌所見は塗抹に於ては各型共高度に（70~100%）陽性であるが、培養陽性率は一型では20%、二型では61%、三型では55%であり、四型では96%が陽性であつた。術前喀痰中結核菌陰性（塗抹、培養共に）は28例でその切除肺病巣中の結核菌培養陽性例は12例であり、これを各型別に見ると一、二、三、四型と順次後者程陽性率は増加している。100例の切除肺中検索せる病巣数は223個で、その塗抹陽性率は71%、培養陽性率は67%である。病巣の種類別にその成績を見ると、空洞では殆んど大多数が塗抹培養共に陽性である。滲出性病巣は11個検査したが全部に培養で発育し、コロニー数も多数のものが大半を占めている。被包乾酪巣は89個で、軟化のあるものでは培養陽性率56%であるに比し、軟化のないものでは38%陽性で前者よりやや劣る。なお塗抹陽性率に比し培養陽性率は両者ともかなり低い。塗抹陽性で併も培養陰性なるものは切除肺病巣では223個中46個（21%）にあつたが、喀痰では1%（検査件数593件中6件）しか認め得ず切除肺病巣に比し著しく低率である。被包乾酪巣に於てその大きさと菌所見との関係を見ると、軟化のある病巣に於ては2cmを越えるものではその殆んどすべてが培養陽性であるが、2cm以下では陽性度は50%前後である。軟化のないものでは、2cmを越える病巣は1個もなく、培養成績は40%前後で前者より劣っている。耐性成績であるが、術前化学剤の使用総量を、対象のコロニー数20個以上発育した63例について調べると、SM, PAS は未使用例が何れも20%前後であり、使用せる例に於ては一般に使用総量は少量である。INA Hは未使用のものが42例で大部分を占める。使用方法は

大部分は2剤の併用使用である。耐性検査は初期は直接法により、後期には間接法によって実施した。対象と同程度に発育した最高 γ を耐性値として判定すると、喀痰並びに切除肺病巣共に耐性値は各薬剤何れも低い。SM 10 γ 耐性1例、PAS 10 γ 耐性1例、INAH 10 γ 耐性1例と切除肺病巣に於て見られたのみであり、30 γ 、100 γ 耐性は皆無であった。喀痰と切除肺主病巣との耐性比較を35例に就て行ったが、SM、PAS、INAH共に差を認めたものは僅かである。同一肺の異なる病巣間の耐性比較を21例について行ったが、SM、PASでは差を認めたものは1例も無く、INAHに於て2例認めた。病巣薬剤の結核菌発育への影響を15例、40病巣について調べたが、対象に比べて3倍以上を促進あり、1/3以下を抑制ありとして判定すると、促進は1病巣、変化なしが30病巣で大部分を占め、抑制を示したものは9病巣に於てこれを認めた。なお病巣の種類別による相違については検査件数少く未だ不明である。抑制を示したものは手術直前に化学療法をかなり行った例に多く見られ、これは塗抹陽性培養陰性とも密接な関係があり、今後実験を重ね確かめるつもりである。

64. 切除肺標本中の結核菌検索成績と病巣所見との関係

岡捨己・菅原庸雄(東北大抗研)

吾々は切除肺の病巣中結核菌の検索の成績について臨床所見との関係を観察したので報告する。一つの材料について塗抹・培養・動物接種を並行して行い、ここには動物実験まで完了した78名174標本についての成績を報告する。78名中男54名、女24名、年齢は20~34才が大部分で特に25~29才が多い。発見の動機は、集検で15名、非結核性疾患の疑いで2名、62名は自覚症状を伴って発病。喀痰中の結核菌は発病時68名に陽性、切除時は24名に減少。虚脱療法をうけたものは、入院前43名、入院後は36名で、又、入院前化学療法をうけたものは60名であり、入院後の化学療法は主としてSM、PAS、INAHの三者併用療法が74名に行われ、6カ月以上続けられたものは42名であった。いわゆる Original treatment としては15名に過ぎなかった。切除部位は左右共 S₁、S₂、及び S₆が多かった。切除肺78例174標本について、塗抹培養、動物接種を並行して行った結果、塗抹139(79.9%)、培養73(42.0%)及び動物接種92(52.9%)がそれぞれ陽性であって、動物接種は一般に信じられているほど優れてはいない。塗抹菌数と培養及び動物接種成績を比較してみると、塗抹陰性の35標本中培養で12(34.3%)、動物接種で15(42.9%)がそれぞれ陽性であり、

反対に塗抹陽性139標本中培養で78(56.1%)、動物接種で62(44.6%)がそれぞれ陰性であった。空洞と被包乾酪巣の標本中結核菌について比較すると、空洞では47標本中、塗抹41(87.2%)、培養又は動物接種40(85.1%)がそれぞれ陽性であり、被包乾酪巣では107中それぞれ87(81.3%)及び41(38.3%)が陽性で空洞中には生菌として検出できる結核菌が高率であった。空洞及び被包乾酪巣に対する化学療法の影響についてみると、入院後主としてSM-PAS-INAHの三者併用が6カ月以上行われたとき、空洞26では20(76.9%)に、被包乾酪巣では57中19(33.3%)に動物接種又は培養陽性であり、化学療法が6カ月以下の場合にはそれぞれ12中9(75%)及び37中17(45.9%)に陽性であった。臨床所見と切除肺病巣中結核菌との関係として、まず肺レ像の推移と切除肺の主病巣並に撒布巣中結核菌との関係についてみる。主病巣では、空洞が縮小した場合は10例中6(60%)空洞が消失し癒痕化に近い場合は16中1(6.25%)、結核腫の場合は11中6(54.5%)、空洞が不変の場合は11中11(100%)、胸成術不成功の場合は7中7(100%)にそれぞれ培養又は動物接種陽性であった。撒布巣でも殆んど同じ傾向であって、主病巣の空洞の縮小したとき、撒布巣13中5(46.2%)、空洞が消失し癒痕化した場合は、撒布巣23中4(17.4%)、結核腫の場合は、撒布巣8中4(50%)、空洞の不変の場合は、撒布巣12中11(91.7%)胸成術不成功の場合は、撒布巣9中6(66.7%)が培養又は動物接種陽性であった。すなわち、撒布巣中の結核菌は、主病巣中の結核菌のと同じような生活力を示していることが知られた。喀痰中結核菌と、病巣中結核菌との関係についてみると喀痰中結核菌が切除前6カ月以上陰性であった67標本では、18(26.9%)に培養又は動物接種陽性であり、喀痰中結核菌が常に又は時々陽性であった79標本では56(70.9%)が培養又は動物接種陽性であって、これは、推計学的に有意の差が認められる。赤沈の推移と病巣中結核菌との関係についてみると、6カ月以上赤沈が1時間値10mm以下の場合の71標本では27(38.1%)6カ月以上赤沈が1時間値20mm以下の場合52の標本では26(50%)、赤沈1時間値が20mm以上を動揺する場合では、48標本中35(72.9%)がそれぞれ培養又は動物接種陽性であった。以上の成績から、肺レ像上、空洞が縮小し更に消失癒痕化し、喀痰中結核菌が、術前6カ月以上陰性であり、赤沈1時間値が術前6カ月以上20mm以下で安定していると、切除肺病巣中結核菌は塗抹で陽性でも培養又は動物接種陰性のものが多く、これに反して、肺レ像上空洞が不変のもの、胸成術不成功のもの、

喀痰中に常に排菌がみられ、赤沈も安定していないものでは、化学療法期間の長短に関係なく、主病巣のみならず撒布巣中からも、結核菌は培養又は動物接種で証明されることが多い。これらの事実は、肺切除適応選定の指針となると考えられる。培養法の改良に対する一つの方法についてのべる。4% H₂SO₄ 水前処置岡・片倉培地に植えた場合と、50単位ペニシリン食塩水で2回洗滌後その沈渣物を5%牛血清加 Kirchner Sy-ser, 培地に培養した場合を比較した。岡・片倉培地に生育しないが Kirchner 培地に生育する場合を観察しているが、なお例数を増して報告したい。

65. 切除肺病巣中の結核菌に関する細菌学的研究

牛場大蔵・横山宗雄(慶大細菌) 中島三郎(専売公社東京病院) 久保田三郎(稲田登戸病院)

肺葉切除及び区域(部分)切除によって得た結核病巣の染色及び培養を行い、その成績と病巣性状との関係、化学療法剤使用量または療法期間との関係その他を調査すると同時に、特に培養方法の中長期液体培養を試みて従来の培養陰性例がどの程度、陽性として認められるかを検討した。検査材料は慶応(K)病院82例、110病巣、専売公社東京(S)病院42例、142病巣、稲田登戸(N)病院62例、190病巣、計186例、442病巣であり、その検査方法は3病院でそれぞれ多少の相異はあるが、共通した点は病巣そのまま、または食塩水、1% NaOH で前処置した場合は1% (KH₂PO₄) 小川培地、4% NaOH 前処置の時は3%小川培地に直接培養(多くはホモジナイザーにて乳剤化)し、液体培地は血清 Kirchner 及び血清 Dubos 培地を用い、ペニシリン、100μ/cc、一部はさらにマラヒット緑(20万倍)を加えた。染色は原材料そのまま、または乳剤を Ziehl-Neelsen 法、一部は螢光法にて検査した。まず各病院別に、染色、培養の成績の組合せを見ると、K病院では110病巣中(染色+培養+) 25%、(染+培-) 36%、(染-培+) 10%、(染-養-) 33%、であり、そのうちいわゆる target point において手術した21病巣を別記して見ると、(染+培-) が10例を数え、(染+培+) は僅か2例に過ぎない。S病院では142病巣中(染+培+) 27%、(染+培-) 32%、(染-培+) 13%、(染-培-) 28%で、空洞に比し濃縮空洞及び乾酪巣では(染+培-) が多数の傾向にあった。N病院では190病巣中(染+培+) 42

% (染+培-) 20%、(染-培+) 10%、(染-培-) 29%で、病巣の大きさで別けてみると大豆大のものは米粒大より遙かに(染+培+) が多いが、(染+培-) は無関係であり、内容融解度からみると、軟化度の著しいものほど(染+培+) が多く、(染+培-) が少ない傾向が明らかに認められた。つきに3病院の全例を集計して染色、培養の関係を SM 使用量(大部分の患者は種々の併用療法を行っているが、便宜上 SM をとり上げた) から見ると、SM 0~11g、12~30g、31~50g、50g以上の4群に分けても、殆んど全く差が認められなかった。また手術前化学療法期間との関係を3カ月毎に区切ってみると、9~12月治療群に(染+培-) が多く、1年以上治療群では(染-培-) が多い外は、やはり全体として著明な差が認められなかった。手術前喀痰中菌陰性期間の長短も1年以上陰性群に(染-培-) が多い外は著しい影響を及ぼさない。培養方法との関係をみるに、55病巣(S病院)につき食塩水乳剤と4% NaOH 乳剤との比較を行うと、4% NaOH では明らかに培養陽性率が低下することが見られた。なお1% NaOH 前処置は食塩水に比べて集落数がやや少数であるが、陽性率に著変はなかった。S病院における液体長期培養は血清 Dubos 培地を用いた10例、31病巣につき、直接固形培地培養と比較されたが、(固形+液体+) 7、(固+液-) 1、(固-液+) 9、(固-液-) 14の成績で、液体培地で始めて陽性となった9例が目玉される。その9例は初代の血清 Dubos 培地で(判定は沈渣染色)、6例陽性であるが、その中3例は8週目に遠沈上清を新しい培地と交換して12~16週目に始めて陽性となったものである。また9例中残りの3例は、2週目遠沈上清を次々に継代する方法により2代目(4週)に2例、3代目(4週)に始めて陽性と判定された。K病院における液体培養は血清 Kirchner 培地を用い、10日、30日、60日と培養後、固形培地へ沈渣を移植して判定したが、10日では陽性率の向上は認められず、30~60日培養に至って38病巣中3例が始めて(固-液+) となり、その逆は1例も見出されなかった。以上の両病院における(固-液+) 例を仔細に検査すると、被包乾酪巣、石灰化巣、濃縮空洞が多く、病巣材料直接染色は12例中5例が陽性(Gaffky 1~10)であった。また長期観察例を集計すると69病巣中12例(17.5%) が、液体培地によって始めて陽性

化したことは、さきに Hobby その他が報じた如く、培養方法如何によっては生存結核菌を従来より高率に切除病巣から見出し得ることを示すものである。しかし一方 S 病院の16週にわたる長期培養でも31病巣中5例に染色陽性で、固形液体培地共になお陰性例のあることは、今後さらに検討すべき余地を残している。従って Hobby の主張するアルブミン・フランクションVが必要であるか否かも不明であるが、上記方法により全般的に培養陽性率を高めることが出来たことは、今後本問題の研究に示唆を与えたものと考えらる。

66. 切除肺病巣に於ける細菌学的並に病理学的研究 (第2報)

額田久子・石田輝俊(東邦大相沢内科)

昭和28年11月より30年1月に至るまでの東邦大学小児外科に於ける肺切除施行患者100例について、切除肺病巣の細菌学的検索を行い、30例について病理組織学的検索を行った。細菌学的検索：実験方法としては、一つの切除肺の空洞内壁、及内容、孤立性病巣、灌注気管枝の断端及内腔、リンパ腺其他より検索を行い、切除肺は術後出来るだけ速やかに無菌的に、3%小川培地へ培養し、原則として集菌は行わず、特に汚染のおそれあるものについてのみ4%苛性ソーダにて集菌培養した。耐性は間接法を以て検し、判定は4週～8週を以て決定した。100例中、肺別切除術7例、肺葉切除術54例、区域又は部分切除術39例で、肺別に於ては100%に、葉切では63%、区域では51%に培養陽性を見た。術前喀痰中に結核菌陽性のも30例で、菌陽性者では93%に、陰性者でも尙47%に培養陽性をみとめた。病巣を肉眼的観察によって、軟化せる空洞、濃縮空洞、被包性乾酪巣に分類した。空洞とは術前X線所見にて透亮をみとめたものである。培養陽性率は軟化空洞最も高く77%、濃縮空洞は僅か8%、被包性乾酪巣に於ては27%～20%で、病巣の大なる程培養陽性率が高い。術前の治療は、化学療法(SM, PAS併用)又はSM, PAS, INAH(併用)3ヵ月以内12例、3ヵ月～6ヵ月39例、6～9ヵ月23例、9ヵ月以上8例で、虚脱療法(気胸1年半～3年施行)と化学療法併用せるもの18例である。病巣別に術前の治療と培養の関係を見るに、軟化空洞に於ては術前の化学療法の期間には殆んど影響がなく、濃縮空洞に於ては、6～9ヵ月に於て殆んど培養陰性となっている。被包性乾酪巣に於ては病巣

の小なる程、又化学療法期間の長いもの程培養陽性率は低い。塗抹標本と培養との関係は、化学療法の長くなるに従い、切除肺病巣よりの塗抹標本で抗酸性菌陽性で培養陰性のものがふえている。又塗抹標本に於ける菌検出率も化学療法期間の長いもの程減少し、病理組織学的に菌を検索した結果と大体一致している。切除肺病巣よりの耐性菌は、喀痰のそれと殆んど同様で、一つの切除肺より2ヵ所以上培養陽性なる場合、時に異なる耐性を示す。10例に耐性菌出現を認めしたが、耐性出現の全例に空洞が認められた。所謂 target point に達したと思われるもの58例で、培養陽性は30%であるが、target point に達しなかったものでは80%に陽性であった。術前 Tuberculoma と診断されたものは17例で、培養陽性は3例であった。以上、空洞を有するもの、術前喀痰中の結核菌陽性のもに培養陽性率高く、術前の化学療法期間中は、軟化せる空洞に於ては影響がないが、濃縮空洞及び被包性乾酪巣に於ては長期に亘る程培養陽性率が減少している。被包性乾酪巣に於ては大なる程培養陽性率が高い。耐性出現は空洞を有するものに多くみとめられた。病理組織学的検索：約30例、60ヵ所について行い、Haematoxylin-Eosin 染色、Mallory 染色、Van Gieson 染色、並びに Alkaline-Carbol-fuchsin に依る組織内に於ける結核菌の検索を併せ行った。化学療法に依る病巣の形態学的変化に就いては従来幾多の業績があるが、われわれの検索した範囲に於ては化学薬剤の種類に依る差異は認められなかった。病巣は何れも被包化治療の傾向が著しい。即ち殆んど全例に於て程度の差こそあれ線維化、一部硝子様化を認め、更に新生血管を伴った非特異性肉芽組織の被覆せる像が観察された。化学療法施行期間に依る病像の差異は3ヵ月乃至1ヵ年程度の差異に依っては余り著明でなく、一般的に云って長期間のものに於て非特異性肉芽組織の形成が、短期間のものに比して著明であるとい得よう。病巣内結核菌については、乾酪巣の軟化せる所に最も屢々見出され、病巣の治癒度とはほぼ平行している。これ等の所見より化学薬剤に依り結核性病変像が特異の変北を生じたものとは解し難く、青木氏等の提唱せる如く自然治癒の促進と見なし得る像と考えられる。