

## ピラジナマイド耐性結核菌の検査について

## 第3報 酸性鶏卵培地の改良

沢 井 武

北里研究所附属病院 (指導 小川辰次)

受付 昭和34年4月22日

## I 緒 論

第2報<sup>1)</sup>においてピラジナマイド(以下PZAと略)耐性結核菌の検査にはpH 5.5の1%小川培地と接種後pH 5.5の3%小川培地が有望であるが、しかしこの培地によるPZA投与前の患者喀痰中の菌すなわちPZA感性とみなされる結核菌の耐性値は幅が広くかつ不規則耐性、不平等発育等の欠点も認められた。それで培地調製の方法の改良を試みつつあつたので報告する。

## II 実験方法

## i) 対象

保存菌株による実験では、1%小川培地で2週培養したH<sub>37</sub>Rv株および人工的に試験管内で作つたH<sub>37</sub>RvのPZA 1,000 $\gamma$ 耐性株(以下H<sub>37</sub>Rv PZARと略)を用いた。

通常検査ではPZA未使用患者喀痰を109例、さらにPZA使用中の患者喀痰72例を用いた。

## ii) 培地

## イ) 従来のPZA耐性培地の作り方

## a) pH 5.5の1%小川培地

1%小川培地の基汁のうち第2報に述べたように培地全量300ccに対して2%マラカイト緑を4ccとしたものを5つ用意し、そのそれぞれに8% HClを16cc宛加え、PZAを加えさらに基汁の2倍量的全卵液を加え、結局PZAの濃度が培地1ccについて5,000 $\gamma$ 、1,000 $\gamma$ 、100 $\gamma$ 、10 $\gamma$ 、0となるようにして5cc宛分注、凝固滅菌した。

b) pH 4.7、4% NaOHで前処理した材料を0.1cc接種後のpH 5.5となる3%小川培地

3%小川培地の基汁100ccのうち2%マラカイト緑を4ccとしたものを5つ用意し、そのそれぞれに8% HCl 26ccとPZAを加えさらに基汁の2倍量的全卵液を加え、結局PZAを培地1ccについて5,000 $\gamma$ 、1,000 $\gamma$ 、100 $\gamma$ 、10 $\gamma$ 、0となるようにして5cc宛分注、凝固滅菌した。

## ロ) 改良培地の作り方

## a) pH 5.5の1%小川培地

従来の培地は前述のように基汁に塩酸を加え、その後卵液を加えたが、それを改めて原液に卵液を加えてから塩酸を加えよく振盪することにした。

	a	b	c	d	e
基 汁	100cc	100cc	100cc	100cc	100cc
P Z A	1,575mg	315mg	31.5mg	3.15mg	/
全卵液	200cc	200cc	200cc	200cc	200cc
8% HCl	15cc	15cc	15cc	15cc	15cc
でき上りの P Z A培地 内濃度	5,000 $\gamma$	1,000 $\gamma$	100 $\gamma$	10 $\gamma$	0

すなわち上の表のように500ccのコルベン5コ(a, b, c, d, e)を用意し、それに1%小川培地の基汁100cc(2%マラカイト緑4ccを含む)宛を分注する。PZAをaには1,575mg, bには315mg, cには31.5mg, dには3.15mg混入しeには対照として薬剤を入れない。PZAは軽く加温して溶解させる。各コルベンに全卵液200ccを加えよく振盪する。ついで各コルベンに8% HCl 15cc宛を振盪しながら少量ずつ入れる。最後に充分にまぜる。型のごとく5cc宛中試験管に分注、凝固滅菌する。薬剤の培地内濃度はコルベンの内容全量が315ccとなるので、a, b, c, d, eのコルベン順に培地1ccについて5,000 $\gamma$ 、1,000 $\gamma$ 、100 $\gamma$ 、10 $\gamma$ 、0となり、凝固後の培地のpHは5.5である。

b) 4% NaOHで前処理した材料を0.1cc接種後pH 5.5となる3%小川培地

前同様基汁に卵液を加えてから所定量の塩酸を加えよく振盪することにした。

	a	b	c	d	e
基 汁	100cc	100cc	100cc	100cc	100cc
P Z A	1,625mg	325mg	32.5mg	3.25mg	/
全卵液	200cc	200cc	200cc	200cc	200cc
8% HCl	25cc	25cc	25cc	25cc	25cc
でき上りの P Z A培地 内濃度	5,000 $\gamma$	1,000 $\gamma$	100 $\gamma$	10 $\gamma$	0

すなわち上の表のように基汁が3%小川培地のもの

であることと、PZAの量が各コルメンの内容全量325 cc であるので a には1,625 mg, b には 325mg, c には 32.5 mg, d には 3.25 mg としたことおよび 8% HCl の量が 25 cc となるほかは pH 5.5 の 1% 小川培地の場合と同様である。

iii) 接種方法

イ) 保存菌種

手振り法で 1 mg/cc の菌液を作り、さらに滅菌蒸留水で 10 倍宛に稀釈して  $10^{-1}mg/cc \sim 10^{-3}mg/cc$  とし、それぞれの 0.1 cc, すなわち  $10^{-1}mg \sim 10^{-4}mg$  を pH 5.5 の 1% 小川培地で作った PZA 耐性検査培地に接種した。また菌を 4% NaOH で前同様に稀釈してその 0.1 cc, すなわち  $10^{-1}mg \sim 10^{-4}mg$  を pH 4.7 の 3% 小川培地に接種した。

ロ) 喀痰

種々の抗結核剤を使用している患者の早朝喀痰を滅菌スピッツグラスにとつた。もちろん前日より投薬を中止した。まず試験管の中に 0.004% に phenolred の混入した 4% NaOH 5~10 cc を入れ、それに喀痰約 1 cc をとつて充分均等化し、その 0.1 cc を pH 4.7 の 3% 小川培地で作った耐性検査培地に接種し残りを 8% HCl で中和し、その 0.1 cc を pH 5.5 の 1% 小

川培地で作った耐性検査培地に接種した。

菌株、喀痰ともに接種後は 37°C で 1 昼夜斜面を水平にして斜面台に寝かせ、ほぼ液のなくなったところでたてて培養した。

iv) 判定

菌液の場合は培養 4 週後に、喀痰の場合は 5 週後に判定した。そして集落の発育した最高の PZA 濃度をもつて耐性値とし、対照培地とほぼ同数の発育を示したものを完全耐性、発育した集落が対照培地に比して少ないときは不完全耐性と区別した。また前報のように培地斜面の上部にのみ結核菌が発育し下部に発育しないものを不平等発育と名づけ、培地内薬剤濃度の低いところ(たとえば 0%) と高いところ(たとえば 100%) に結核菌が発育し、その中間(たとえば 10%) に発育しないものを不規則耐性と名づけた。

III 成績

i) 改良培地の性状

イ) 不規則耐性および不平等発育

4% NaOH で前処理して pH 4.7 の 3% 小川培地で作った耐性検査培地に接種し、発育したものが 42 例またさらに中和して pH 5.5 の 1% 小川培地に接種

表 1 改良培地の不規則耐性と不平等発育

培地	比較事項 pH および 処理方法 適要	不規則耐性		不平等発育	
		検査例数	不規則耐性例数 (%)	検査培地数	不平等発育培地数 (%)
3%小川培地	pH 4.7 → 5.5 4% NaOH	42	0 (0)	124	21 (16.9)
1%小川培地	pH 5.5 中和	44	0 (0)	131	0 (0)

して発育したものが 44 例であつた。

その成績は表 1 に示すように改良培地では不規則耐性例は pH 4.7 の 3% 小川培地でも、pH 5.5 の 1% 小川培地でも 1 例もなかつた。また不平等発育を示した培地は、pH 4.7 の 3% 小川培地で 21 本 (16.9%) 認め、pH 5.5 の 1% 小川培地では 1 本も認めなかつた。

ロ) 培地保存の影響

培地を作製してからどれくらい長く使用に耐えるかをみるために、pH 4.7 の 3% 小川培地と pH 5.5 の 1% 小川培地で作った耐性検査培地を室温 (10~20°C) に保存し 1 週ごとに pH を測り、その都度 H<sub>37</sub>Rv PZA 感性株を、pH 4.7 の 3% 小川培地には 4% NaOH で処理し、pH 5.5 の 1% 小川培地には滅菌蒸留水で稀釈し、それぞれ  $10^{-1}mg \sim 10^{-3}mg$  を 0.1 cc に

含ませて接種した。

成績は表 2 に示すように、pH 4.7 の 3% 小川培地では 3 週後に pH が 4.9, 4 週目には pH 5.0 と弱酸性となり、4 週目には菌量の多い  $10^{-1}mg$  では 100% に菌が発育した。また pH 5.5 の 1% 小川培地では、5 週目に pH が 5.7 と弱酸性となり、菌量の多い  $10^{-1}mg$  では 100% に発育した。すなわち 3% 小川培地、1% 小川培地では保存期間が長びくとともに酸性度が弱くなり、これに反映して耐性値が高くなる傾向を示している。

ii) 改良培地の耐性値の現れ方

イ) 保存菌株による実験

さきに実験方法の項で述べたようにして H<sub>37</sub>Rv の PZA 感性株の  $10^{-1}mg$ ,  $10^{-2}mg$ ,  $10^{-3}mg$ ,  $10^{-4}mg$  を改良した pH 4.7 の 3% 小川培地および pH 5.5

表2 培地保存の影響

培地		処理		PZA 濃度 $\gamma/cc$		期間(週)および pH																	
						直後 (4.7→5.5)			I (4.7→5.5)			II (4.7→5.5)			III (4.9→5.6)			IV (5.0→5.7)			V (5.1→5.8)		
						$10^{-1}$ mg	$10^{-2}$ mg	$10^{-3}$ mg															
小川培地	3%	4%	NaOH	5,000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
				1,000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
				100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21	-	-	36	9	-
				10	120	46	8	53	11	4	79	32	6	+	120	28	+	+	56	+	+	66	
				0	+	+	135	61	+	92	31	+	+	160	40	+	+	90	+	+	160	+	+

  

培地		処理		PZA 濃度 $\gamma/cc$		期間(週)および pH																	
						直後 (5.5)			I (5.5)			II (5.5)			III (5.5)			IV (5.5)			V (5.7)		
						$10^{-1}$ mg	$10^{-2}$ mg	$10^{-3}$ mg															
小川培地	1%	無処理	5,000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
			1,000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
			100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16	-	-
			10	+	95	21	200	6)	9	153	50	11	100	41	6	+	69	15	+	120	21		
			0	+	+	160	+	+	+	+	+	136	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

注：表中記載は集落数を示す その表示は次のごとくである  
 卍…… 培地全面に発育したもの  
 卍…… 培地面の約 1/2 に発育したもの  
 卍…… 培地面の約 1/3 に発育したもの  
 +(数字)… 集落算定できて集落数 200 以下のもの

の 1% 小川培地に接種して改良以前の培地と比較した。さらに H<sub>37</sub>Rv PZA 1,000  $\gamma$  耐性株の  $10^{-1}mg \sim 10^{-4}mg$  を両培地に接種して感性株と比較した。

成績は表 3 に示すように、感性株を接種した実験では従来の培地では pH 4.7 の 3% 小川培地、pH 5.5 の 1% 小川培地ともに、 $10^{-1}mg$  では 100  $\gamma$  の耐性であったが、改良培地では pH 4.7 の 3% 小川培地、pH 5.5 の 1% 小川培地ともに菌量の如何にかかわらず 10  $\gamma$  またはそれ以下の耐性を示し、100  $\gamma$  に発育したものはない。また改良培地に H<sub>37</sub>Rv PZAR を接種した成績は、pH 4.7 の 3% 小川培地で  $10^{-1}mg \sim 10^{-3}mg$  では 1,000  $\gamma$ 、 $10^{-4}mg$  では 100  $\gamma$  であり、pH 5.5 の 1% 小川培地では菌量の如何にかかわらず 1,000  $\gamma$  の耐性を示した。

ロ) PZA 未使用患者喀痰による直接法の実験

PZA 未使用患者の喀痰 109 例を 4% NaOH で前処理しその 0.1 cc を pH 4.7 の 3% 小川培地に接種し、残りの材料を 8% HCl で中和しその 0.1 cc を pH 5.5 の 1% 小川培地に接種した。その結果 pH4.7

の 3% 小川培地に発育した 45 例と pH 5.5 の 1% 小川培地に発育した 47 例について、集落数を 卍, 卍, 卍, 卍, 卍 に分けて耐性値の現れ方をみた。卍は培地全面に発育したもの、卍は培地面の約 1/2 に発育したもの、卍は培地面の約 1/3 に発育したもの、卍は集落数の算定できるものであつて集落数は 200  $\gamma$  以下である。

成績は表 4 に示すように、完全耐性でとると、pH 4.7 の 3% 小川培地、pH 5.5 の 1% 小川培地ともに 10  $\gamma$  あるいは 10  $\gamma$  以下であつて、不完全耐性でとると pH 4.7 の 3% 小川培地で集落数の多い 2 例が 100  $\gamma$  の耐性を示し、その他は 10  $\gamma$  またはそれ以下の耐性である。次に pH 5.5 の 1% 小川培地では、完全耐性でとつても不完全耐性でとつてもともに 10  $\gamma$  あるいは 10  $\gamma$  以下である。またおのおのの例について、pH 4.7 の 3% 小川培地と pH 5.5 の 1% 小川培地での耐性値は大部分一致している。

ハ) PZA 使用患者の喀痰による直接法の実験

PZA 使用前および使用中の患者喀痰 72 例について直接法により 4% NaOH で前処理したものを pH

表3 改良培地における H<sub>37</sub>Rv 株と H<sub>37</sub>Rv PZA 耐性株の耐性値の現れ方

菌 株 培地改良 の有無 接種菌量				H <sub>37</sub> Rv PZA 感性株								H <sub>37</sub> Rv PZA 耐性株					
				改 良 培 地				従 来 の 培 地				改 良 培 地					
				10 <sup>-1</sup> mg	10 <sup>-2</sup> mg	10 <sup>-3</sup> mg	10 <sup>-4</sup> mg	10 <sup>-1</sup> mg	10 <sup>-2</sup> mg	10 <sup>-3</sup> mg	10 <sup>-4</sup> mg	10 <sup>-1</sup> mg	10 <sup>-2</sup> mg	10 <sup>-3</sup> mg	10 <sup>-4</sup> mg		
培地	処理	pH	PZA 濃度 γ/cc														
3% 小川	4% NaOH	4.7→ 5.5	5,000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
			1,000	-	-	-	-	-	-	-	-	150	49	14	-		
			100	-	-	-	-	13	-	-	-	143	26	19	1		
			10	44	9	-	-	96	12	-	-	160	51	14	5		
			0	卅	136	22	7	卅	140	16	4	152	62	18	3		
1% 小川	無処理	5.5	5,000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
			1,000	-	-	-	-	-	-	-	卅	150	56	4			
			100	-	-	-	-	19	-	-	-	卅	卅	71	12		
			10	17)	4)	4	-	卅	71	4	-	卅	卅	89	8		
			0	卅	卅	158	39	卅	卅	146	27	卅	卅	80	11		

注：表中記載は集落数を示す  
その表示は表2のごとくである

表4 改良培地に PZA 未使用患者喀痰を接種したときの耐性値の現れ方

培地および喀痰 処理方法			3%小川培地 pH 4.7→5.5 4% NaOH				1%小川培地 pH 5.5 中 和			
			集落数	卅	卅	++	+	卅	卅	++
耐性値の 種類	PZA 混入濃度 γ/cc									
完全耐性	5,000	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1,000	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	4	6	7	7	3	5	7	7	
	0	1	3	5	12	2	4	9	10	
不完全耐性	5,000	0	0	0	0	0	0	0	0	
	1,000	0	0	0	0	0	0	0	0	
	100	1	1	0	0	0	0	0	0	
	10	4	7	9	9	4	7	10	8	
	0	0	1	3	10	1	2	6	9	

注：1) 表中記載は例数を示す  
2) 集落数の表示は表2の注に同じである

4.7 の 3% 小川培地に接種すると同時にこれを中和して pH 5.5 の 1% 小川培地に接種して PZA 耐性値の動きをみた。PZA の投与方法は 2g 経口毎日法

がほとんどであり、大部分が INH との併用である。なお SM, PAS, INH に耐性のある患者が多かった。投与期間は 3~14 カ月であつた。まず pH 4.7 の

表 5 改良培地に PZA 使用中の患者喀痰を接種したときの PZA 耐性値の現れ方  
〔その1〕 症 例

患者名 PZA混入 濃度 $\gamma/cc$	(1) ■■■■				(2) ■■■■				(3) ■■■■				(4) ■■■■						
	使用中				使用中				使用中				使用中						
	使用前	1	2	3	使用前	2	4	5	使用前	1	2	4	6	使用前	2	5	7	9	10
5,000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1,000	-	-	71	200	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	6	51
100	-	+	130	200	-	-	+	51	-	-	-	6	+	-	12	6	76	+	46
10	+	+	136	200	-	61	+	46	-	11	+	120	+	36	+	+	80	+	40
0	+	+	130	200	+	70	+	42	+	+	+	110	+	45	+	+	60	+	50

注：表中記載は集落数を示す  
その表示は表 2 のごとくである

表 6 改良培地に PZA 使用中の患者喀痰を接種したときの PZA 耐性値の現れ方  
〔その2〕 PZA 使用期間と耐性値との関係 (pH 4.7 の 3% 小川培地)

耐性値 の種類	PZA 濃度 $\gamma/cc$	使用期間(月)													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
完全耐性	5,000														
	1,000		1	1	1	3	2	1	1		1				1
	100			1	2	4	1	1	1	1			1	1	
	10	1	3	2	2	2	2	1	1		1	1			
	0	2	1												
不完全耐性	5,000							1							
	1,000		1	1	1	4	3		1		1				1
	100			1	2	4	1	1	1	1		1	1	1	
	10	2	3	2	2	1	1	1	1		1				
	0	1	1												

注：表中記載は例数を示す

3% 小川培地を用いて追求した 4 例を表示する。

a) 症例

これらの例はいずれも使用前は 10  $\gamma$  あるいは 10  $\gamma$  以下であるが、PZA の投与期間が長びくとともに耐性値が上昇している。

b) PZA 使用期間と耐性値の現れ方

PZA 使用中の患者喀痰を pH 4.7 の 3% 小川培地と pH 5.5 の 1% 小川培地に接種して陽性であった 44 例について使用期間と耐性値との関係をみた。

pH 4.7 の 3% 小川培地の成績は表 6 に示すようであつて、完全耐性でとつても不完全耐性でとつても例数が少ないので、PZA の投与期間と耐性値の上昇の関係はあまりはつきりしないが、上昇の傾向は認められ

る。

pH 5.5 の 1% 小川培地の成績も表 7 に示すようにほぼ同様である。

IV 総括および考察

作り方を改良した今回の pH 5.5 の 1% 小川培地および pH 4.7 の 3% 小川培地では、直接法たとの間接法たとを問わず、不規則耐性は 1 例も認めない。このことは大きな進歩である。また不平等発育も pH 5.5 の 1% 小川培地では全然認めず、pH 4.7 の 3% 小川培地において 17% 前後に認めるにすぎない。この事実も以前に比して大きな進歩であると考えてよい。また耐性値の現れ方は、以前の培地では、感性菌であつ

表7 改良培地に P Z A 使用中の患者喀痰を接種したときの P Z A 耐性値の現れ方  
〔その3〕 P Z A 使用期間と耐性値との関係 (pH 5.5 の 1% 小川培地)

耐性値の種類	P Z A 濃度 $\gamma/cc$	使用期間(月)													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
完全耐性	5,000														
	1,000		1	1		3	2		1		1				1
	100			1	2	4	1	1	1	1			1	1	
	10	1	3	3	2	2	2	1	1		1	1			
	0	2	1	1											
不完全耐性	5,000														
	1,000		1	1		4	2		1		1				1
	100		1	2	3	4	2	1	1	1			1	1	
	10	2	3	3	1	1	1	1	1		1	1			
	0	1													

注：表中記載は例数を示す

でも、10  $\gamma$  以上の耐性を示すものも多少認められたが、今回の改良培地は、接種菌量が多いときは耐性値が高くなる傾向はあるが、しかし大体において 10  $\gamma$  あるいは 10  $\gamma$  以下である。簾野<sup>2)</sup>らは同じような培地を用いて未使用患者 7 例中 1 例 200  $\gamma$  に耐性を示したものがあると報告している。また人工的に作った P Z A 耐性結核菌では、はつきり耐性を示しているし、P Z A 授与患者の耐性検査においては、P Z A の授与期間の長びくとともに耐性値の上昇が認められた。以上のような事実から、われわれの今回の培地は P Z A 耐性結核菌の検査に使用できそうに思われる。しかし pH 4.7 の 3% 小川培地による直接耐性検査では、不平等発育を示すものがあるので、pH 5.5 の 1% 小川培地による直接法あるいは間接法が適当ではないかと推定される。pH を 4.7 にしたときの 1% 小川培地はどのような成績を示すかは、今後さらに検討したいと思っている。次にわれわれの耐性検査培地は、保存するに従って酸性の度が次第に減少することが認められた。すなわち pH 4.7 の 3% 小川培地は 4 週以後、pH 5.5 の 1% 小川培地は 5 週以後は pH が軽度ではあるが酸度の低下を認め、接種菌量が多いと耐性値の上昇も認めた。したがってこのような培地は作製後 3~4 週以内に使用することがよいと思われる。なお以前に実験した Löwenstein-Jensen 培地、Steenken-Smith 培地では基汁と鶏卵液を混合した後で塩酸を加えて酸性にしたのであるが、不規則耐性も不平等発育も認められた。したがって今回の改良法が以前の培地に比してすぐれていることは、

あるいは塩酸を加える時期ということだけではなく、少量ずつ HCl を加え、しかもよく振盪しながら作ることににより培地内酸度が平等になつたためかもしれない。この点についてさらに検討したいと考えている。

### V 結 論

1% 小川培地および 3% 小川培地を pH 5.5 および pH 4.7 とするのに、以前は基汁をあらかじめ酸性にした後で卵液を加えていたが、この度これを改めて、基汁と鶏卵液を混合した後で塩酸を少量宛加えながら充分振盪して均等化したうえで分注、凝固滅菌するようにした。このようにして作った pH 5.5 の 1% 小川培地と pH 4.7 の 3% 小川培地による P Z A 耐性検査用培地に、保存菌株、喀痰を材料にして耐性検査を行なつたところ、次のような成績を得た。

1) 今回の培地では、不規則耐性は両培地ともに認められなくなり、不平等発育も pH 4.7 の 3% 小川培地で若干認められる程度であつて、pH 5.5 の 1% 小川培地では全然認めない。

2) P Z A 未授与の喀痰により感性菌の耐性値をみると、3% 小川培地で集落数の多い 2 例が 100  $\gamma$  の不完全耐性を示したほかは 10  $\gamma$  あるいは 10  $\gamma$  以下の耐性を示し、1% 小川培地では完全耐性でとつても不完全耐性でとつても 10  $\gamma$  あるいは 10  $\gamma$  以下の耐性を示した。

3) 改良培地で P Z A 授与中の患者喀痰で直接法により耐性値の経過をみると、P Z A の耐性値が上昇す

るのを認めた。

4) 改良耐性検査培地は、1% 小川培地は 4 週まで  
3% 小川培地は 3 週まで性能が変化しない。

以上の事実から pH 5.5 の 1% 小川培地は PZA  
耐性結核菌の検査に使用できそうである。

終りにのぞみ、終始御指導を戴き、御校閲を賜わつた

慶応大学医学部石田二郎教授ならびに北里研究所部長小  
川辰次先生に深謝する。

#### 文 献

- 1) 沢井：結核，34：568，昭34.
- 2) 岡野・旗野・村尾・百瀬・永見・白石・横山：結  
核研究の進歩，22：47，昭33.