

病巢内結核菌の研究

三 輪 太 郎

名古屋大学医学部青山内科教室 (指導 青山進午教授)

国立療養所梅森光風園 (指導 青井節郎所長)

受付 昭和34年1月7日

I 緒 言

病巢内で結核菌がいかなる性状を保つかについては古来幾多の研究があつたが、肺切除療法の発達は新鮮な結核病巣を数多く検索しうる機会をもたらした、病巢内結核菌の態度も漸次明らかになりつつある。すなわち Medlar¹⁾, D'Esopo²⁾ 以来内外多数の研究があるがその問題点は「閉鎖性病巣には塗抹陽性培養陰性菌が多くみられる」ことで、その菌の生死をめぐつて幾つかの論議がかわされてきた。

私は切除肺、摘出材料、剖検肺の病巢内結核菌について病巣の性質、化学療法との関連を考察し、また培養に関与する条件についても検討を加へことに塗抹陽性培養陰性菌の出現について観察した。さらに *in vitro* で乳酸接触によつて実験的塗抹陽性培養陰性菌を作り、これを用いて各種培地の検出能を比較し、さらにこの菌の生体内においての復活、蘇生を検べるためコーチゾンおよびアロキサン負荷動物体内でのこれらの菌の状態について研究した。

II 検査材料、検査方法および実験方法

1. 検査材料および検査方法

a) 検査材料

肺切除 53 例 231 病巣 (空洞 50, 閉鎖性病巣 155, その他 26), 切開空洞 20 例 29 病巣, 摘出リンパ腺 6 例 19 例, 剖検 22 例 149 病巣, 総計 428 病巣である。

b) 検査方法

塗抹標本は Ziehl-Neelsen 染色後検鏡し Canetti³⁾ にならぬ 100 視野の総数を求めた。

切除病巣では乳鉢またはホモチナイザーで磨碎後、生理的食塩水、ソートン培地液、0.01% 活性炭末水、0.1% アルブミン水等で稀釈し、その 0.1 cc または 0.2 cc を主として 1% KH_2PO_4 培地に培養し、他に 0.25% 焦性ブドウ酸加小川培地、キルヒナー培地、デュボス培地およびそれらの 2% 寒天、炭末加寒天、血液寒天培地も用いた。

摘出リンパ腺の場合はこれに準じて培養したが、剖検材料および切開空洞の場合は 4% NaOH で前処理し、3% KH_2PO_4 培地に接種した。

培養の判定は毎週行い、12~16 週までの成績によつた。

2. 実験方法

ソートン培地 継代培養 H_{37}Rv 株を 1% KH_2PO_4 培地に接種後、3 週目のよく発育した菌苔上に 0.2% および 0.4% 乳酸を十分注ぎ孵卵器中に保存し、毎週とり出し乳酸液を捨てたのち、菌液を作製し、その 0.1 cc を 1% KH_2PO_4 培地、焦性ブドウ酸加培地に還元培養した。

塗抹標本は型のごとく Ziehl-Neelsen 染色を行い、また Middle-brook 法によつて H_2O_2 分解能を検査した。

動物実験は体重 300 g、ツ反応陰性の海狸 60 頭に 1~8 週間乳酸接触菌液 (1 mg/cc, 0.1 cc) を、対照動物には H_{37}Rv 菌液 (1 mg/cc, 0.1 cc) をそれぞれ筋肉内に接種し同時にコーチゾンアセテート 20 mg/kg を 24 日間連日筋肉内に注射し、4 週後屠殺、局所リンパ腺、肺、肝、脾から臓器培養を行うとともに、組織標本を作製し、ヘマトキシリンエオジン染色を行つた。

また体重 20 g 前後のマウス 100 頭の腹腔内にアロキサン 150 mg/kg を注入し、Crecelius-Seifert 法により血糖を測定し、48 時間後 250~300 mg/dl となつたとき、1~6 週間乳酸接触菌液 (0.1 mg/cc, 0.1 cc) を腹腔内に接種し、対照には H_{37}Rv 菌液 (生菌単位 15×10^8 , 0.1 cc) を接種した。早期死マウスは全身ホモチナイズにより、生存したものは 6 週後体重測定の上屠殺し臓器培養を行つた。

III 成 績

1. 人体における検査成績

a) 切除標本の検査成績

表 1 に示すように病巣の種類を肉眼的に空洞、閉鎖性病巣 (乾酪巣および充実空洞、以下全部この意味) およびその他 (気管支内容、リンパ腺等) に 3 大別し、前 2 者について長径の大きさにより分けると、病巣の大きさにより塗抹陽性率にやや差がみられ、閉鎖性病巣では 2 cm をこすと急に陽性率が高くなつた。これらの標本の菌数は表 1 各欄下段に示した。

閉鎖性病巣の肉眼的軟化の有無と菌との関係について

表1 切除病巣の結核菌塗抹成績
(陽性率と100視野菌数)

病巣の種類	大きさ				
	~1cm	~2cm	~4cm	4cm~	平均
空洞	75% 0~2,066 283	67% 0~1,538 573	93% 0~∞ 2,926	100% 390~∞ 3,452	82% 0~∞ 1,609
閉鎖性	45% 0~202 13	54% 0~760 67	82% 0~584 71	9% 0~1,000 263	56% 0~1,000 89
その他					35% 0~350 28

各欄上段は陽性率%, 中段は100視野菌数, 下段はその平均

は表2のように「軟化あり」の80%に菌がみられ、菌数50以上がその40%を占めるが、「軟化なし」の菌陽性率は56%に止まり、菌数50以下がその66%を占めた。

菌の形態は空洞内のは全般に正常型の長桿状菌が多く、Ziehl 顆粒は黒染している。閉鎖性病巣内の菌は短桿状のものが多く、顆粒状集簇もしばしばみられた。

表2 病巣軟化の有無と菌数

肉眼的所見	菌数					
	0	~50	~100	~200	~400	400~
軟化あり	6	14	2	1	2	5
軟化なし	40	33	5	5	3	4

表3 切除病巣の培養成績

病巣の大きさ	~1cm		~2cm		~4cm		4cm~	
	菌数	種類	菌数	種類	菌数	種類	菌数	種類
0	5	56	5	36	0	6	0	7
~50	2	10	1	5	2	2	1	0
+	3	3	2	3	2	1	0	4
++	2	6	0	3	1	3	0	2
+++	4	2	3	1	4	2	1	0
++++	2	0	1	0	5	0	4	0
陽性率%	72	27	58	25	100	57	100	46

培養成績は表3のごとくで、空洞では50コ中40コ(80%)に陽性でことに長径2cm以上のものでは全例陽性を示し、++以上の多量発育をみたものが培養陽性例の70%近くを占めている。

閉鎖性病巣155コでは33%が培養陽性となつたの

みで、長径2cm以上の病巣はそれ以下のものに比しほぼ2倍の陽性率を示した。発育集落数は100コロニー以下の例が62%を占めた。

閉鎖性病巣中その病巣が主病巣となつている21症例についてみると図1のように塗抹、培養陽性率ともに長径2cmを境として明らかな差を示す。娘病巣134コでは図2のように、主病巣が空洞であるか否かによつて培養陽性率に大きい差が現われている。

図1 主病巣たる閉鎖性病巣の大きさと菌陽性率

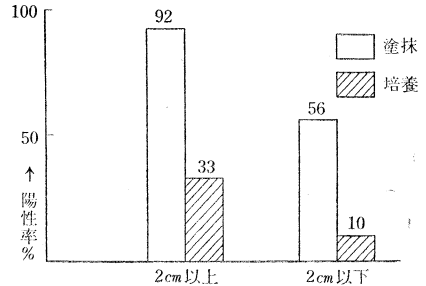
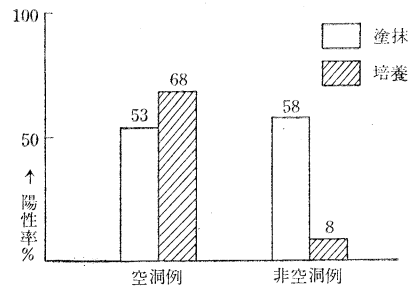


図2 娘病巣の菌陽性率



肉眼的軟化の有無については表4のごとくで「軟化あり」では66%の陽性率で、その80%以上が50コロニー以上、「軟化なし」では陽性率15%でその75%までが50コロニー以下である。

表4 病巣軟化の有無と培養成績

肉眼的所見	培養コロニー数		
	0	~50	50~
軟化あり	15 34%	5	24
軟化なし	91 85%	12	4

いわゆる塗抹陽性培養陰性菌は67病巣にみられたが、これは検査病巣155コの43%に相当する。塗抹陽性培養陰性菌とその病巣の大きさ、可視菌数との関連をみたのが表5である。この菌の65%は径1cm未満の小病巣に出現し、100視野10以下という少数菌例であることが多かつた。

表5 塗抹陽性培養陰性菌と病巣との関係

可視菌数	病巣の大きさ				計
	~1cm	~2cm	~4cm	4cm~	
~10	22	5	3	0	30
~50	10	2	3	0	15
~100	3	1	0	0	4
~200	5	0	0	0	5
~400	2	2	2	1	7
400~	2	2	2	0	6
計	44	12	10	1	67

表6 化学療法コースと培養陽性率

コース	* 培養陽性率 %	主病巣の性状	
		洞あり	洞なし
初回治療	46	10	17
再治療	85	20	3
未治療	100	2	1

* 1病巣でも(+)となれば症例を(+)として取扱った

表7 初回治療群の治療期間と培養陽性率

期間	培養陽性率	主病巣の性状	
		洞あり	洞なし
~6ヵ月	67	6	6
~12ヵ月	55	3	8
12ヵ月~	25	1	3

表6は化学療法コースによつてみた主病巣の性状と病巣内結核菌培養陽性率との関係である。陽性率は初回治療、再治療、未治療の順に上昇しているが、有空洞率もまた平行して上昇している。初回治療例での治療期間との関連を表7に示すが、6ヵ月を境として差がみられた。

以上の培養を行うにさいして前処理、稀釈液、培地等に2,3の方法を行い比較したが、その成績を総括すると表8のごとくで、焦性ブドウ酸加培地の使用により他の方法で陰性のものの10%を陽性化し、集落の早発、増大、増加をみたものとあわせ30%に効果をもとめた。

b) 切開空洞および摘出リンパ腺の検査成績

切開空洞の塗抹陽性率は90%で、菌数は180~∞/100視野の範囲にあつた。培養陽性率は72%であつた。

摘出リンパ腺6例19コのうち塗抹陽性2コ、菌数は2および14/100視野で培養陽性は4コ(21%)であつた。

表8 種々の操作が培養陽性化に及ぼす影響

	方 法	効 果
前 処 理	24時間凍結直後	コロニー小、数は少なくなるもの多し、汚染も多くなる
稀 釈 液	生理的食塩水 ソートン培地 0.01%活性炭末水 0.1%アルブミン水	不変、選心、洗滌も差なし 汚染やや多し
磨 碎	乳 鉢 ホモジナイザー	ややコロニー数減少
接 種 量	0.1 cc 0.2 cc	不 変
培 地	0.25% 焦性ブドウ酸加1% KH ₂ PO ₄ 炭素天培地 液 体 培 地	50%に発育増強、陽性化 汚染多し

表9 剖検病巣内の結核菌塗抹検査成績 (陽性率と100視野菌数)

病巣の種類	病巣の大きさ				平均
	~1cm	~2cm	~4cm	4cm~	
空 洞	77%	100%	90%	100%	91%
	0~∞ 968	0~2,762 1,157	0~∞ 4,323	6~∞ 3,733	0~∞ 2,345
閉鎖性病巣	67%	86%	50%		69%
	0~192 21	0~108 36	0~84 42		0~192 33
そ の 他					38% 0~372 52

各欄上段は陽性率%, 中段は100視野菌数, 下段はその平均

表10 剖検病巣の培養成績

病巣の 大きさ	病巣の種類				
	~1cm	~2cm	~4cm	4cm~	
菌数	空洞	閉鎖性病巣	閉鎖性病巣	閉鎖性病巣	閉鎖性病巣
	0	0 11	0 1	0 2	0
	~50	2 6	0 2	0	1
	+	2 8	1 0	1	0
	++	3 1	1 1	3	2
	+++	8 8	3 2	6	7
	6 2	4 0	11	13	
陽性率%	100 69	100 85	100 0	100	

c) 剖検標本の検査成績

表9は塗抹検査の成績である。空洞では91%、閉鎖性病巣では69%、その他のものでは38%に菌を

検出した。菌数は空洞が全般に多く、閉鎖性病巣では非常に少なく、もつとも多いもので 192, 平均 33/100 視野にすぎなかつた。結核菌の形態は切除標本と異なることなく空洞内のもは長桿状, 紐状で閉鎖性病巣内では顆粒状, 短桿状のものが多かつた。

培養成績は表 10 のごとくで空洞では 100 % の培養陽性率を示した。菌数の少ない例のうち 1 例は肉眼的浄化空洞, 1例は嚢胞状空洞であつた。閉鎖性病巣は67%の陽性率でしかも ++・+++ 発育が半数近くみられ, 長径 2 cm 以下の小病巣内にも多量の発育旺盛な菌が存在することを示した。

切除例に多い塗抹陽性培養陰性例はわずか 4 症例 9 病巣にのみみられた。

また培養したリンパ腺は表 11 のごとく 7 例 14 コであつたが, 白亜化, 石灰化のものもあり, これらのうち 5 例 8 コ (43 %) から結核菌を培養しえた。

表 11 剖検リンパ腺の検査成績

症例	部位	性状	大きさ	塗抹	培養
1	気管支肺	乾酪化	1 × 1 × 1	20	38
2	肝上	白亜化	3 × 2 × 2	--	1
3	a 分岐部	乾酪化	1 × 1 × 1	--	100
	b "	"	1 × 2 × 2	--	80
4	a 腸間膜	石灰化	1 × 1 × 0.5	--	20
	b "	白亜化	0.5 × 0.5 × 1	--	42
5	a 分岐部	乾酪化	1 × 2 × 3	--	75
	b 静脈角	"	3 × 3 × 2	--	1
	c "	"	3 × 1 × 1	--	--
6	a 気管支肺	乾酪化	2 × 2 × 3	--	--
	b "	"	2 × 1 × 1	1	--
7	a 気管支肺	乾酪化	1 × 1 × 0.5	--	--
	b "	"	"	--	--
	c "	"	"	--	--
				陽性率	14%
					45%

2. 乳酸接触菌の実験成績

a) 乳酸接触の影響

前述の方法による乳酸接触菌を週を追つて Ziehl-Neelsen 染色を行つたが, 12 週間接触菌でもなお抗酸性は失われずよく赤染した。しかし菌体は顆粒状となるものが多く, 4 週以後は著明であつた。

この菌液の培養成績を培地 1 本当りの平均生菌数で見ると, 表 12 のように乳酸接触 1 週では対照に比しやや発育不良の程度であるが, 2 週のものでは著明な集落数減少をきたし, 0.2 % 乳酸接触 3 週のものでは対照 卅に比し 0~21 コロニー, 4 週目では 0~2.3 コロニー, 0.4 % 乳酸接触では 3 週目 0~5 コロニー, 4 週目 0~0.4 コロニーとなり 6 週以降は発育菌をみなかつた。これらの菌のカタラーゼ反応は陰性または弱陽性であつた。

以上の成績から乳酸接触による 2 週菌, 3 週菌は塗抹陽性培養微量菌, 4 週菌は塗抹陽性培養極微量または陰性菌, 4 週以後のものは塗抹陽性培養陰性菌とみなす

表 12 乳酸接触菌の培地 1 本当り生菌数

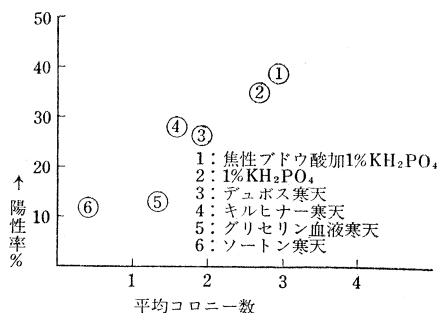
実験回数	乳酸濃度 %	乳 酸 接 触 週							
		1	2	3	4	5	6	8	
1	0	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	
	0.2	卅	+	5.5	2.3	0	0	0	
	0.4	卅	20	0	0	0	0	0	
2	0	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	
	0.2	卅	1.9	1	0.2	0	0	0	
	0.4	卅	1.6	0	0.4	0	0	0	
3	0	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	
	0.2	卅	+	21	1	0	0	0	
	0.4	卅	40	5	0	0	0	0	
4	0	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	
	0.2	卅	2	0	0	0	0	0	
5	0	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	
	0.2	卅	21	0	0	0	0	0	
6	0	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	
	0.2	卅	+	6	0	0	0	0	
7	0	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	
	0.2	卅	+	2	0	0	0	0	

ことができる。

b) 乳酸接触菌と各種培地の微量菌検出能

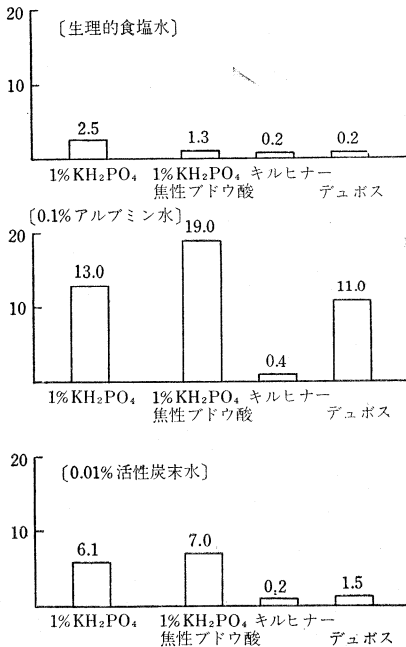
乳酸接触 3 週目の菌液を各種培地に接種し微量菌検出能をみたのが図 3 である。平均コロニー数および陽性率からみると図のごとく焦性ブドウ酸加 1 % KH₂PO₄ 培地がすぐれ, 1 % KH₂PO₄ 培地はこれとほぼ等しくデュボス寒天, キルヒナー寒天培地はやや劣り, 血液寒天, ソートン寒天培地は低い検出能より示さなかつた。しかしデュボス, キルヒナー寒天はいずれも集落初発日数が早く, 1 % KH₂PO₄ 培地より 1 週間早発したものもあつた。

図 3 各培地の微量菌検出能



これらの培地と稀釈液をいろいろ組合わせると図 4 のごとく 0.1 % アルブミン水処理がいずれの培地にも

図4 稀釈液, 培地とコロニー数



よく、0.01% 活性炭末水でも生理的食塩水よりも良結果を得た。培地では焦性ブドウ酸加小川培地がすぐれ、デュボス寒天も良好な結果を示した。

c) 乳酸接触菌とコーチゾン負荷海狸

コーチゾン大量負荷海狸での乳酸接触菌液接種成績は表13のごとくである。

ツ反応は乳酸接触3週以上の菌を接種した場合は陰性となつたが、対照 H₃₇Rv 群でもコーチゾン使用獣では陰性となるのがみられた。体重は乳酸接触4週以上菌接種群では減少が起らず、むしろ増加がみられる。局所農場、所属リンパ腺腫大は2週接触菌接種のものまでみられ、それ以上の接触菌ではみられなかつた。

臓器の肉眼的所見は2週接触菌接種群以降ではなんら異常がみとめられなかつた。

臓器培養ではコーチゾン使用群で乳酸接触2週菌、3週菌で陽性となる例がみられたが、非使用群では2週以上接触菌接種ですべて陰性であつた。H₃₇Rv 菌を用いた対照群からはコーチゾン負荷群の方が検出菌数多く、肺、肝からも菌を培養した。

肺、肝、脾、リンパ腺の組織学的所見は対照動物にみられた巨細胞、結節等が乳酸接触1週菌接種臓器にのみみられ、それ以上の接触菌ではコーチゾン使用の有無にかかわらずとくに病的所見がみられなかつた。

d) 乳酸接触菌とアロキサン負荷マウス

アロキサン腹腔内注射マウスの血糖平均値は図5のごとくで、注射後48時間で平均200 mg/dl をこえた。このとき乳酸接触菌を接種した成績が表14であ

る。体重は一定の傾向がなかつた。

臓器の肉眼的所見としては、乳酸接触3週菌接種マウスの肝に結節形成をみた例があつたが、それ以上の接触菌接種獣からはとくに病的変化を発見しなかつた。

培養成績は1週菌接種群ではほぼ対照同様に大量発育をみ、2週菌接種群では対照に比し減少してはいるが、なお平均50コロニー余の発育をみた。3週菌群ではアロキサン負荷獣で大量発育をみた1例のほかは、対照に比し著明な減少をみた。アロキサン群でとくに菌数が増すことはなかつたが実験中の早期死亡が多かつた。

IV 総括および考案

切除閉鎖性病巣155コの塗抹陽性率は56%、培養陽性率は32%で、塗抹陽性培養陰性菌は69コ、閉鎖性病巣の45%にみられた。一方、剖検閉鎖性病巣では塗抹69%、培養67%の陽性率で、塗抹陽性培養陰性例は44コ中8コ(18%)にすぎなかつた。

切除例の閉鎖性病巣については軟化の有無で培養陽性率が66%から15%と大きく異なり、病巣の大きさは2cmをこすと陽性率が増し、娘病巣となつてい

るものでは、それが空洞に随伴するものでは68%、非空洞に随伴するものでは8%と大きい差を示す。塗抹陽性培養陰性菌はすでに桂⁴⁾が指摘したが Medlar¹⁾ が発表して以来にわかに問題化されたものであり、その菌の生死をめぐる論争は1953年の Panne¹⁾ Discussion²⁾ 以来今日にいたるもなお決定的なものはない。その成因については化学療法によるとする者が多く、SM 毎日法が週2回法よりも菌検出率を低めうるといふ Falk⁵⁾、8ヵ月以上治療例で菌数が減少するといふ D'Esopo⁶⁾、岡⁷⁾らがある。Raleigh⁸⁾ も Chemotherapeutic target point に達したか否かで培養陽性率に18~80%の差があると化学療法の効果と病巣内菌との関連を指摘している。一方、化学療法の影響とはいえないとの Beck⁹⁾、Katz¹⁰⁾ の報告があり Griffith²⁾ は化学療法時代以前の300例中176例に塗抹陽性培養陰性をみたと報告している。

Canetti³⁾ は化学療法の期間や種類と菌とは直接に関連しないが化学療法により病巣の性状が大きく変わりそれにつれて菌の態度も変りうることを述べている。

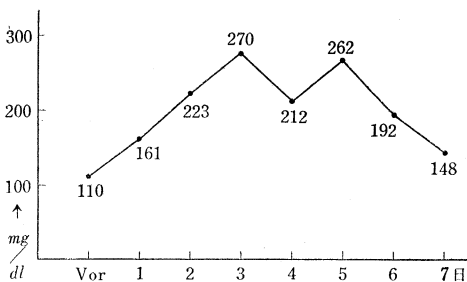
私の例について化学療法との関係をみると再治療よりも初回治療群で菌検出率が低く、また治療期間が長いほど検出率が低くなり、化学療法と菌陽性率とは関連をもつようであるが、空洞の有無により陽性率が異なり病巣の性状に支配されることも否定できない。

また Dubos^{11)~13)} らは病巣の物理化学的環境を重視する立場をとり、Hobby¹⁴⁾ はそれに基づいて Dormant な菌の存在を提唱した。私も前処理、稀釈液等に

表 13 コーチゾン海狸乳酸接触菌接種実験成績

接種菌	使用頭数	コーチゾン	ツ反応	平均体重	リンパ腺	培 養				
						肺	肝	脾	リンパ腺	局 所
乳酸1W菌	4	あり 2	+	-60	米粒大	12	30	45	100	320
		なし 2	+	-40	小豆大	9	30	50	100	100
H ₃₇ Rv	2	あり 1	+	-50	小豆大	0	17	100	180	
		なし 1	+	-80	大豆大	0	50	20	100	
2W菌	4	あり 2	-	-40	小豆大	1	0	0	8	
		なし 2	-	±0		0	0	0	0	
H ₃₇ Rv	2	あり 1	+	-100	大豆大	100	39	65	200	300
		なし 1	-	-80		9	51	200	300	
3W菌	6	あり 4	-	-40		0	0	2	0	
		なし 2	-	-40		0	0	0	0	
H ₃₇ Rv	2	あり 1	-			0	1.5	2	100	
		なし 1	+	-60	大豆大	50	0	25	100	300
4W菌	8	あり 6	-	+10		0	0	0	0	
		なし 2	-	+40		0	0	0	0	
H ₃₇ Rv	6	あり 4	-	-5	小豆大	16	21	75	150	
		なし 2	+	+10	大豆大	0	0	5	100	150
5W菌	4	あり 2	-			0	0	0	0	
		なし 2	-			0	0	0	0	
H ₃₇ Rv	2	あり 1	±			12	50	100	100	
		なし 1	+		大豆大	0	0	20	100	100
6W菌	4	あり 2	-	+70		0	0	0	0	
		なし 2	-	+40		0	0	0	0	
H ₃₇ Rv	2	あり 1	-	-20		10	7	30		
		なし 1		-40	大豆大	2.5	0.5	1.5	50	
8W菌	4	あり 2		+20		0	0	0	0	
		なし 2		+20		0	0	0	0	
H ₃₇ Rv	2	あり 1		-70	小豆大	2	1	6	200	
		なし 1		-10	大豆大	0	0	100	0	

図 5 アロキサン注射マウスの平均血糖値



ついでこの点を検討したがその存在を確認することはできなかった。

剖検閉鎖性病巣では Medlar¹⁵⁾ の 15 屍体 49 巣中 81% に生菌を検出した報告があるが、とくに生えにくい菌の存在についての記載はない。私の 22 屍体 44 病巣はほとんどが長径 2 cm 以下の小さいもので塗抹菌数も平均 33/100 視野というものであるにもかかわらず 67% もの高い培養陽性率を示し、さらにリンパ腺から

も 57% に生菌が検出され切除例と大きな差があつた。このことは剖検例は慢性重症肺結核で一般状態の不良なことを考えあわせて病巣自体の性状とともに宿主全体の条件が菌発育に大きい影響力をもっているものと推察することができる。

閉鎖性病巣内の結核菌が酸素張力の低下、代謝産物の蓄積等の環境下であり、これらが菌の発育に阻止的に働く因子であることは Dubos^{11) 12)} らのすでに唱えたところで、彼はとくに乳酸¹⁶⁾ の作用を強調した。私はこの乳酸と接触することによつて 4 週後に実験的塗抹陽性培養陰性菌を作つたが、岡¹⁷⁾ は INH 接触によつてこれを作りこの菌を用いての実験で、培地によつては一部はなお培養陽性となしうる可能性を示した。私も実験の途中、塗抹陽性培養微量菌のときを利用して各種培地の性能をみたが焦性ブドウ酸加 1% KH₂PO₄ および 1% KH₂PO₄ 培地が良好な結果を得、拮抗物質としての焦性ブドウ酸¹⁸⁾ のためであろうが鶏卵培地の微量菌検出能の悪くないことを知つた。前処置としてはアルブミ

表 14 アロキサンマウス乳酸接触菌接種実験成績

接 種 菌	頭数	早 期 死亡数	臓器培養の平均コロニ ー数(肺, 肝, 脾の平均)
乳酸接触 1 W菌	2		100
アロキサン	4	3	142
H ₃₇ Rv	2		150
アロキサン	4	1	150
2 W菌	4		61
アロキサン	8	1	49
H ₃₇ Rv	4		90
アロキサン	8	1	137
3 W菌	4		2
アロキサン	8	1	39
H ₃₇ Rv	4		200
アロキサン	8	1	250
4 W菌	2		0
アロキサン	4		0
H ₃₇ Rv	2		110
アロキサン	4	1	100
6 W菌	2		0
アロキサン	4		0
H ₃₇ Rv	2		60
アロキサン	4		82

ン水, 活性炭末水による稀釈が好成績をえた。

in vitro で培養陰性となった乳酸接触菌は in vivo でいかなる態度をとるか, 宿主の状態を悪くして結核症の進展に都合のよい環境に用意するためコーチゾンおよびアロキサンを用いた。Spain¹⁹⁾を始めとしてコーチゾンによる実験的結核症悪化の報告は多いが, Steenken²⁰⁾は切除材料接種海鯨にこれを用いて陰性結果を報じている。私の実験も 20 mg/kg の大量を用いたが, 4週以上乳酸接触菌を復活蘇生せしめえなかつた。アロキサン過血糖マウスでも 4週以上接触菌はなんら病原性を示さずに終つた。

in vitro での陰性菌は発病条件の準備された in vivo でも復活することはなかつた。

さらに病理組織標本の所見からこれらの菌の病原性とその増殖性より強く障害されているという知見を得たが, 実験に用いた乳酸濃度にも問題はありさらに検討を加えることとする。

以上の臨床的および実験的観察からは塗抹陽性培養陰性菌の生死の結論は保留せざるをえないが, その臨床的意義について考えれば, 培養陰性菌の蘇生, 復活はほとんど無視しうるものと思われる。

V 結 論

1) 譚核肺切除病巣 231 コ, 切開空洞 29 コ, 摘出

リンパ腺 19 コ, 肺結核屍剖検病巣 149 コ, 計 428 病巣について細菌学的検索を行った。

空洞 157 コでは塗抹 88%, 培養 86%, 閉鎖性病巣 200 コでは塗抹 59%, 培養 45%, リンパ腺 35 コでは塗抹 11%, 培養 34%, その他 36 コから塗抹 42%, 培養 70% の結核菌陽性率を得た。

閉鎖性病巣のうち切除病巣では 45% に塗抹陽性培養陰性菌がみられたが, 剖検肺病巣からは 67% の培養陽性率を得た。また剖検リンパ腺は 43% の培養陽性率を示した。

2) 病巣内菌と化学療法との関係については, 初回治療例 46%, 再治療例 83%, 未治療例 100% の培養陽性率で, 初回治療例の治療期間では 6 カ月未満 67%, 12 カ月未満 33%, 12 カ月以上 25% の陽性率であつた。しかし培養陽性率は空洞の有無, 病巣軟化の有無, 病巣の大きさ等とより密接な関係にあつた。

3) 塗抹陽性培養陰性菌を陽性化する手段として切除直後より 24 時間凍結したのち培養する方法, アルブミン水, 活性炭末水等で洗滌, 稀釈, ホモチナイズする方法, 種々の培地を用いる方法等を行つたが, 焦性ブドウ酸加 1% KH₂PO₄ 培地を用いてやや良好な成績を得た。

4) 乳酸接触操作により実験的塗抹陽性培養陰性菌を作製したが, 乳酸接触 2, 3 週間では塗抹陽性培養微量菌, 4 週では培養陰性または極微量菌, 4 週以上では全く培養陰性菌となつた。この菌のカタラーゼ反応は陰性または弱陽性を示した。またこの菌を用いて各種培地の微量菌検出能をしらべたが焦性ブドウ酸加 1% KH₂PO₄ 培地, 1% KH₂PO₄ 培地が好結果をえた。

5) コーチゾン負荷海鯨およびアロキサン負荷マウスに乳酸接触菌を接種し, 蘇生, 復活の有無について検討したか乳酸接触 4 週以上の菌の還元培養は陰性に終り病原性をとり戻すことはなかつた。

御指導を賜つた青山進午教授, 青井節郎所長ならびに松原弘昌助教授に厚く謝意を表するとともに, 鈴木喜久夫氏ら梅森光風園検査科諸兄姉の御協力に感謝する。

なお本研究は厚生省治療研究費の御援助によつた。

本論文は昭和 30 年 10 月第 8 回日本胸部外科学会総会, 昭和 31 年 6 月第 10 回日本結核病学会 東海地方会, 昭和 32 年 4 月第 32 回日本結核病学会総会, 昭和 32 年 6 月第 12 回日本結核病学会 東海地方会, 昭和 33 年 5 月第 33 回日本結核病学会総会に発表した。

主 要 文 献

- 1) Medlar E.M. et al. : Am. Rev. Tuberc., 66 : 44, 1952.
- 2) D'Esopo N. : Am. Rev. Tuberc., 68 : 447, 1953.

- 3) Canetti G. : The Tubercle Bacillus in the Pulmonary Lesion of Man, Springer Co., New York, 1955.
- 4) 桂重鴻 : 日本臨牀結核, 9 : 209, 昭25.
- 5) Falk A. et al. : Am. Rev. Tuberc., 70 : 689, 1954.
- 6) D'Esopo N. et al. : Transaction of the 12th Conference on Chemotherapy of Tuberculosis V.A. Hospital Army & Navy, 1953.
- 7) 岡捨己 : 肺結核の化学療法, 克誠堂, 昭31.
- 8) Raleigh J.W. et al. : Transaction of the 13th Conference on Chemotherapy of Tuberculosis V.A. Hospital Army & Navy, 1954.
- 9) Beck F. & Yegian D. : Am. Rev. Tuberc., 66 : 44, 1952.
- 10) Katz H.L. : Transaction of the 12th Conference on Chemotherapy of Tuberculosis V.A. Hospital Army & Navy, 1953.
- 11) Dubos R. : Am. Rev. Tuberc., 65 : 637, 1952.
- 12) Dubos R. : Am. Rev. Tuberc., 67 : 874, 1953.
- 13) Dubos R. : J. Exp. Med., 97 : 357, 1953.
- 14) Hobby G.L. : Am. Rev. Tuberc., 70 : 191, 1954.
- 15) Medlar E.M. et al. : Am. Rev. Tuberc., 63 : 449, 1951.
- 16) Dubos R. : J. Exp. Med., 92 : 319, 1950.
- 17) 岡捨己 : 日本医事新報, -1635, 3, 昭30.
- 18) Dubos R. : J. Exp. Med., 98 : 145, 1953.
- 19) Spain D.M. & Molomut N. : Am. Rev. Tuberc., 62 : 337, 1950.
- 20) Steenken W. : Transaction of the 12th Conference on Chemotherapy of Tuberculosis V.A. Hospital Army & Navy, 1953.