

肺結核症ならびに実験的結核モルモットより分離した 結核菌以外の抗酸性菌について

第4報 非病原性抗酸性菌と推定された11株のマウス接種実験

遠 山 和 明

北里研究所付属病院 (指導 小川辰次部長)

受付 昭和35年1月12日

I 緒 論

私はマウスに被検株を静脈内に接種して、1週、3週、6週にわたって屠殺剖検し、組織学的にみるとともに臓器中の菌の消長に重点をおいて検索すると、病原菌と非病原菌の鑑別が可能であることを前報¹⁾で述べた。それでこの方法を用いて、私が前に試験管内の実験^{2) 3)}を実施した菌株の中から無選択に選んだ11株について、この中に、はたして病原性がある菌株が存在するかどうかを検討するとともに、アメリカ方面で研究されている非定型的抗酸性菌についての多くの発表の成績と比較してみた。なおこれらの実験により、試験管内の病原性菌と非病原性菌との鑑別の方法をふり返って反省することもできるし、またアメリカ方面で研究されている非定型的抗酸性菌の本態が分かるのではないかと思つたから

である。

II 実験方法

第3報の予備実験により、マウスの尾静脈より菌を接種し、1週、3週、6週に屠殺剖検して臓器を肉眼的ならびに組織学的に検索するとともに臓器よりの菌の還元培養を行ない、臓器中の菌の消長をみた。その詳細は次のようである。

① 被検株

試験管内の実験をした菌株の全部をマウスに接種することは困難があつたので、その中の11株を選んだ。

その試験管内の実験成績は表1のようであつて、この成績からいえばその全部が非病原性抗酸性菌と推定されるものである。

② 動物

表1 被検株の試験管内の実験成績

菌 株	出 所	集 落		抗 煮 煮 抗 中 性 ナイアン 沸 値 形 成 性 性 シアン (チャール) (寒天) (平板) 赤反応 反 応	薬 剤 感 受 性									
		着色	性状		SM	PAS	INAH	C	PZA	KM	VM			
小 山	胃 液	白	R	3	-	-	-	耐	耐	感	耐	耐	感	耐
津 田	喀 痰	白	中間	1	-	±	-	耐	不完耐	不完耐	感	耐	不完耐	耐
柴 田	喀 痰	白	S	3	-	+	-	耐	耐	不完耐	感	耐	不完耐	耐
吉 田	喀 痰	白	S	3	-	±	-	耐	耐	感	感	耐	不完耐	耐
本 田	喀 痰	白	S	1	-	-	-	耐	耐	不完耐	感	耐	感	耐
清 水	喀 痰	乳白	S	4	-	±	-	耐	耐	不完耐	感	耐	不完耐	耐
小 野	喀 痰	黄	S	3	-	-	-	耐	感	不完耐	感	耐	感	耐
弘 光	喀 痰	黄	S	1	-	-	-	耐	耐	感	感	耐	感	耐
三 枝	喀 痰	黄	S	1	-	±	-	耐	感	感	感	耐	不完耐	不完耐
朝 日	喉頭粘液	乳白	S	3	-	-	-	耐	不完耐	不完耐	感	耐	不完耐	耐
野 沢	喀 痰	白	S	4	-	±	-	不完耐	耐	不完耐	感	耐	感	耐

注: 1) 抗煮沸値は分を示す。

2) コード形成性、中性赤反応、ナイアン反応について、
-は陰性を、±は疑陽性を示す。
3) 耐は完全耐性を、不完耐は不完全耐性を、また感は感性を示す。

4) 耐性の基準は次のようである。

SM	10γ	} 以上
PAS	1γ	
INAH	1γ	
C	100γ	
PZA	100γ	
KM	10γ	
VM	10γ	

5) SM はストレプトマイシンの略
PAS はパラアミノサリチル酸 "
INAH はイソニコチン酸ヒドラチッド "
C はサイクロロゼリン "
PZA はピラジナマイド "
KM はカナマイシン "
VM はバイオマイシン "

ddN 系雄マウスを使用した。実験は3回にわたって行なわれたが、動物の体重は第1回目 10 g 前後、第2、第3回目はそれぞれ 20 g 前後のものを使用した。そして1つの菌株について6匹のマウスを使用した。

③ 接種の方法

被検株の 0.5 mg/cc 均等浮游菌液を作り、その 0.2 cc ずつすなわち 0.1 mg 宛をマウスの尾静脈より接種した。ただし、大部分の菌株は S 型であったので、その菌量は不正確であった。接種した菌の生菌単位は 1% 小川培地で計算すると次の表のようになる。10⁻⁸ mg のところでは

接種菌量		接種菌量		
		10 ⁻⁶ mg	10 ⁻⁷ mg	10 ⁻⁸ mg
小	山		7	1
津	田		76	7
柴	田	+	110	10
吉	田		69	6.5
本	田		42.5	3.5
清	水		89	15.5
小	野	39	1.5	
弘	光		9	1.5
三	枝		48	0.5
朝	日	冊	約 1,120	
野	沢	冊	約 400	54

注：表中の数字、記号は集落数を示す。
冊～+は無数であることを示し、+の多いほど集落数の多いことを示す。

小野株、三枝黄株は1桁以下、小山、津田、吉田、弘光株は1桁、柴田、清水、野沢株は2桁、朝日株は3桁の集落数を示している。この成績は、菌量が正確に測定できなかったためであるが、それにしても人型結核菌に比しては同じ菌量で比較すると集落数が多い。

④ 実験の計画

菌接種後1週、3週、6週に2匹ずつ屠殺し、肺、脾、肝等の肉眼的病変をみ、脾重量を測定し、臓器の一部をとって組織学的検索を行ない、また肺、肝、脾より抗酸性菌の定量還元培養を行ない菌の消長をみた。なお屠殺前に毎週体重を測定した。

⑤ 還元培養の方法

小川ら⁴⁾の定量培養の方法に従った。すなわち上皿天秤で臓器の量を測定しこれに10倍量の1% NaOHを加えて滅菌乳鉢でよくすり、それをさらに10倍、あるいは100倍に稀釈して、その0.1 cc 宛を2本の1%小川培地に接種して毎週観察し、3週で集落数を数えた。臓器を100倍、1,000倍稀釈したのは集落数を数えることのできるようになるためである。100倍に稀釈したものを0.1 cc 接種したときの集落数は臓器 1 mg

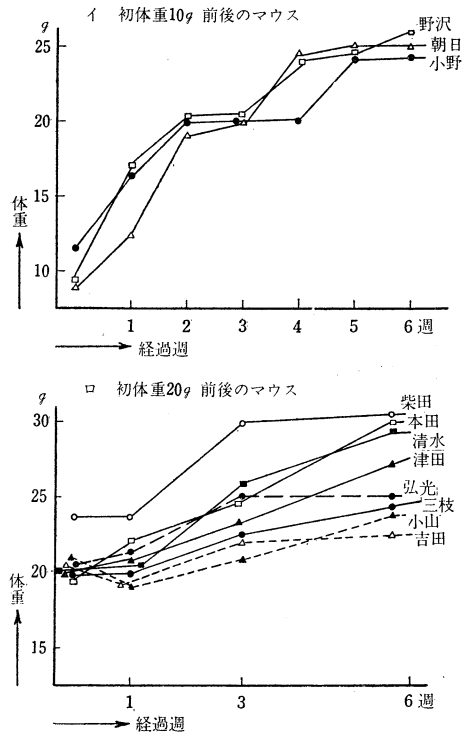
中の、また1,000倍にうすめてその0.1 cc を接種したものは0.1 mg の臓器中の集落数を示すことになる。

III 実験成績

① 体重

11株の菌接種マウスの体重は吉田株、小山株で接種

表2 体重曲線



後1週でやや下降傾向を示したが他の9株の接種群においては週の進むに従い、滑らかな増加傾向を辿り特別の増減の変化は認められず、吉田、小山株の2株においてもその1週での体重減少はきわめてわずかであり3週、6週の測定では他の9株の接種群と同様の増加を示した。

② 剖検所見

i) 肉眼的所見

表3に示すように11株の接種群の1週、3週、6週における脾、肝、肺で肉眼的病変を示したものは、津田株の第3週における1匹の肺においてやや多数の結核結節様の病変を認めたのと、朝日株の第6週の1匹に肺に同様の結節様の病変1ヶ所を認めたにすぎない。

ii) 脾の重量

表4に示すように11株のうち、本田株と津田株の2株のみが増減なくほぼ一定の重量を示しているが、他の9株中の3株、すなわち吉田、三枝、小山の3株がやや大きな増加を示したが残りの6株は滑らかな増加傾向を示している。

表 3 臓器肉眼所見

接種菌株	臓器	動物番号		1 週		3 週		6 週	
		①	②	③	④	⑤	⑥		
		小 山	脾 肝 肺	-	-	-	-	-	-
津 田	脾 肝 肺	-	-	-	-	-	+	-	-
柴 田	脾 肝 肺	-	-	-	-	-	-	-	-
吉 田	脾 肝 肺	-	-	-	-	-	-	-	-
本 田	脾 肝 肺	-	-	-	-	-	-	-	-
清 水	脾 肝 肺	-	-	-	-	-	-	-	-
小 野	脾 肝 肺	-	-	-	-	-	-	-	-
弘 光	脾 肝 肺	-	-	-	-	-	-	-	-
三 枝	脾 肝 肺	-	-	-	-	-	-	-	-
朝 日	脾 肝 肺	-	-	-	-	-	-	-	+
野 沢	脾 肝 肺	-	-	-	-	-	-	-	-

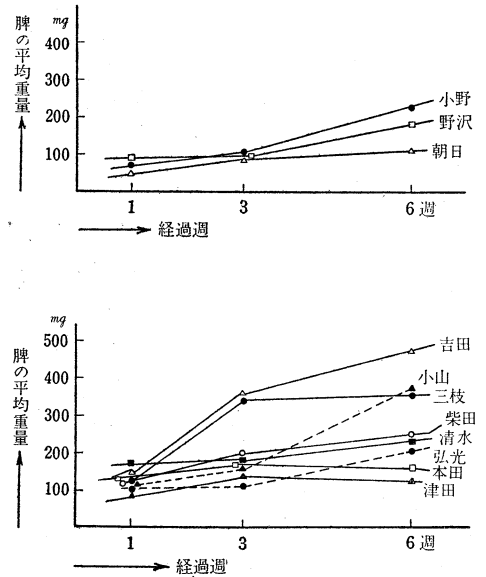
注：+，+は結核結節様病変の存在を，-は病変のないことを示す。

③ 組織学的所見

脾；11株の接種群の第1週には全部に著変なく，第3週では赤色髄に細胞の増加がみられるが結核結節のような限局性的変化はなく，第6週でもそれを認めない。

肝；第1週において Kupffer 氏細胞の活動化像がみられ，第3週では小さい結節を多数認めた。これは主に巨大喰細胞と少数の多核白血球よりできている。この時

表 4 脾の重量



期に定型的な類上皮細胞は認めない。(結核菌では前報のごとく，H₂株で，この時期に定型的な類上皮細胞を認めている。)なお Glisson 氏鞘に円形細胞浸潤および肝細胞の変性像を一部に認める。第6週では，さきの多数の小結節は大部分淋巴球または淋巴球様の細胞よりなり，結節の中心部に少数の巨大喰細胞，あるいは類上皮細胞様の細胞が認められるのみである。

肺；11株の接種例の全例において，第3週に充出血を認めるものがあつた以外に特記する変化は認めない。

以上を要約すると，11株の接種群においては，肺，脾に明らかな結核結節のような限局性的病変を認めなかつた。肝では肉芽腫を形成するが前報で報告した結核菌 H₂株接種にみるような定型的なものではなく，第6週では結節は主に淋巴球および淋巴球様細胞で占められ非特異化している。この点が普通類上皮細胞結節が萎縮消失化する場合には，類上皮細胞そのものが細小化してゆくの異なる。しかし反応形式は巨大喰細胞を主としていたのであつて，病原菌の場合と根本的には同じである。なお津田株，朝日株では肺に肉眼的に結核結節様のものを認めたが組織学的には特別の変化は認められなかつた。

④ 臓器よりの還元培養

11株のマウス臓器よりの還元培養成績は表5に示すとおりである。

接種菌の生菌単位がかなり違っているものがあつたが11株中，津田株の第3週における1匹のみ肺において増加をみたのが唯一の例外であつて，他の10株の全例が接種後第1週において脾，肝，肺の3臓器ともほとんど多くの菌を還元培養しえた。そして第3週，第6週と週の進むにつれ3臓器とも菌は減少した。

表5 還元培養の成績

接種菌株	臓器	動物番号	1 週		3 週		6 週		1 週		3 週		6 週								
			稀釈倍数						10 ⁻²						10 ⁻³						
			①	②	③	④	⑤	⑥	①	②	③	④	⑤	⑥	①	②	③	④	⑤	⑥	
小山	脾 肝 肺		137	+	0	3	0	0	21	16	1	0	0	0	+	+	0	0	0	0	
			+	+	1	25	0	0	51	46	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			2	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
津田	脾 肝 肺		Ⅲ	Ⅲ	+	+	+	+	+	+	+	1	44	56	+	+	44	56			
			Ⅲ	Ⅲ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	97	21	+	+	97	21		
			39	68	3	Ⅲ	5	12	4	4	0	+	0	+	0	1	0	+	0	1	
柴田	脾 肝 肺								+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
			68	50	42	36	9	8	13	11	5	6	1	0	120	100	1	0			
吉田	脾 肝 肺		Ⅲ	Ⅲ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
			Ⅲ	Ⅲ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
			26	55	4	5	5	2	2	8	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	
本田	脾 肝 肺		+	+	0	1	1	0	13	18	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	
			Ⅲ	+	0	0	1	0	86	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			9	8	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
清水	脾 肝 肺		Ⅲ	Ⅲ	+	+	+	+	+	+	+	+	96	99	+	+	96	99			
			Ⅲ	Ⅲ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
			10	33	10	11	5	3	1	3	1	0	1	2	1	2	1	2	1	2	
小野	脾 肝 肺		+	+	115	+	27	4	+	+	10	32	2	0	+	+	2	0			
			+	+	+	+	10	18	+	+	123	62	1	2	+	+	1	2	+	+	
			98	34	4	7	0	0	4	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
弘光	脾 肝 肺		91	+	1	0	0	0	31	44	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	
			17	+	0	0	0	0	2	21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
三枝	脾 肝 肺		Ⅲ	Ⅲ	176	150	0	0	+	+	104	50	0	0	+	+	0	0			
			Ⅲ	Ⅲ	164	50	0	0	+	+	100	8	0	0	0	0	0	0	0	0	
			7	50	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
朝日	脾 肝 肺		Ⅲ	Ⅲ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
			Ⅲ	Ⅲ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
			+	+	124		51		15	30	9		0								
野沢	脾 肝 肺		+	+	+	+	45	+	101	130	34	54	4	18	+	+	4	18			
			+	+	+	+	84	157	+	130	52	113	10	53	+	+	10	53	+	+	
			63	69	7	20	5	4	8	6	1	2	0	1	0	1	0	1	0	1	

注: 1) 表中の数字, 記号は集落数を示す。

2) Ⅲ~+は無数であることを示し, +の多いほど集落数の多いことを示す。

例外を示した津田株は肉眼的に第3週の肺において結核結節様の病変を認め, またこの臓器の還元培養で同じく肺に第3週に菌の増加をみたのであるが, 組織学的には病変を認めなかった。また肉眼的に病変を認めた朝日株の6週の肺においてはとくに集落数は多くない。このことは組織学的の所見をそのまま反映させるもの

であつて, 非特異性のものであることを示すものである。

IV 総括および考察

私がマウスを選んだのは, 非病原性抗酸性菌と称されているものの中には, モルモットには病変を示さないも

のであつても、マウスには病変を示すようなものがありはしないかと思つたからである。

次に菌を接種したマウスの経過をみてゆくことに重点をおいたのは、1つの断面よりも、断面の2, 3を綴り合わせてこれを経過としてみてゆくならばもつと正確な判定ができると考えたからである。たとえば病原性のないものを接種した場合は一応は病変は起こるが長い期間中にはその病変は次第に退行し、ある時期には全く消失するであろう。また、病原菌であれば、とくにそれが結核菌に類する慢性の疾患を起こすようなものであれば病変は次第に進行する可能性がある。

私の方法が正しいかどうかは今後の問題としても以上のような考えを基礎にして私はマウスにおいて少なくとも特異的な組織学的の病変が存在し、その病変が週を経過とともにはっきりしてくる、および肺の中の菌数が次第に増加することの2つの条件を満たすものを病原性のあるものと仮定した。したがつて今までの方法では無毒と判定されたものの中から有毒と判定されるものが出てくるかもしれないし、あるいはその反対のことも起こりうるであろう。とくにアメリカの人たちのいつている非定型的抗酸性菌は結核菌と非病原性抗酸性菌の間と考えられているので、このような菌株に該当するものが私の非病原性抗酸性菌と考えたものの中から検出できるかもしれない。

以上のような判定により私は試験管内の実験から非病原性抗酸性菌と推定された11株について、またその3株については2回にわたつて同一の実験を繰り返したのであるがこれら11株の菌株の中にはつきりと病原性があると断定できるものは1株もなかつた。この成績からすると前報で報告した菌株の61株の全部が毒力がないものと推定される。私の実験した菌株の中には肉眼的に結節様の病変を示したものもあるが、それは組織学的にはとくにその肉眼的病変に呼応したような病変を示していなかつた。また肺の中の菌数がとくに増加を示した1株があつたがこの1例にしても組織学的には特異的病変を認めていない。なお、私の実験した全部の菌株において肝臓にのみ経過の途中で病変を示したが、この病変は非病原性抗酸性菌特有なものであるかどうか検討する必要があるが、しかし、それは結核性のもとは異なるし、また時日の経過とともに次第に退行性的変化を示したし、その病変に呼応した増菌もみられないので毒力があるとはいえないだろう。

私のような判定の基準で実験している学者は少ないようである。わが国では宮本⁵⁾らがほぼ私と同様の実験を行なつてゐる。氏らの実験は肺の切除病巣から分離した菌株についてのものであるが、その菌株は非定型的抗酸性菌と称されているがその動物接種の成績は私の非病原性抗酸性菌と全く似ている。

次に非定型的抗酸性菌と称されている菌株のマウス静脈内接種の実験で毒力があるとする判定基準をみると、Ann Pollak⁶⁾ら、Emanuel Wolinsky⁷⁾ら、William Steenken⁸⁾ら、Wendel H. Hall⁹⁾ら、J. B. Selkon¹⁰⁾ら、Albert G. Lewis¹¹⁾ら、長倉¹²⁾ら、植田¹³⁾は肉眼的にあるいは組織学的に病変を示しているものを、H. C. Engbaek¹⁴⁾ら、工藤¹⁵⁾らは菌の還元培養の陽性のもののみを、占部¹⁶⁾ら、Laurence G. Wayne¹⁷⁾ら、Alice Timple¹⁸⁾らは病変の存在することあるいは菌の還元培養の陽性であつたものとしている。しかし、これらの学者たちの実験は私のように動的ではなくて、単に断面だけの検査である。

このように検査の基準が異なるので私の成績と比較することは不可能であるが前述の諸学者のように臓器に病変があつたものを毒力があると判定しても、還元培養陽性であることをもつて毒力があると判定しても、私の実験した菌株の全部が毒力があるということになる。また私の基準で判定するならば非定型的抗酸性菌の中で毒力があると称されているものの中にはかなり多くの無毒のものも含まれているのではないかと推定される。

これを要するに私の菌株の中からは毒力を認めたものはないが、はたしてこれらのものの中に非定型的抗酸性菌に該当するものがあるかどうかは今後さらに検討してみたい。

なお、私の以上の成績は私の実施した試験管内の諸種の病原菌との鑑別方法は、化学療法が行なわれている今日においても以前同様に通用することを示すものであろう。

V 結 論

ddN系のマウスの尾静脈に0.1mgの菌を接種して1週、3週、6週に屠殺剖検し、はつきりした組織学的所見を示しさらに肺の中の菌数が経過とともに増加することをもつて、毒力があると判定する方法で11株の非病原性抗酸性菌と推定されるものを実験したが、その中には病原性を認めたものは1株もなかつた。

稿を終るにのぞみ終始御指導を頂き、御校閲を賜つた慶大医学部石田二郎教授ならびに北研付属病院小川辰次部長に、また病理組織学的検索に多大の御助力を賜つた北里研究所岡本部長、北研付属病院足立達部長に対し深く感謝の意を表します。

文 献

- 1) 遠山：結核，35：409，昭35。
- 2) 遠山：結核，35：480，昭35。
- 3) 遠山：結核，35：529，昭35。
- 4) 小川：結核，24：19，昭24。

- 5) 宮本 他 : 結核, 34 : 498, 昭34.
- 6) Ann Pollak et al. : Transaction National Tuberculosis Association, 49th Annual Meeting.
- 7) Emanuel Wolinsky et al. : Am. Rev. Tbc., 75 : 180, 1957.
- 8) William Steenken et al. : Transactions of the 16th Conference on the Chemotherapy of Tuberculosis by the Veterans Administration-Armed forces, 295, 1957.
- 9) Wendel H. Hell et al. : Transactions of the 16th Conference on the Chemotherapy of Tuberculosis by the Veterans Administration-Armed forces, 286, 1957.
- 10) J.B. Selkon et al. : Tubercle, 40 : 141, 1959.
- 11) Albert G. Lewis et al. : Am. Rev. Resp. Dis., 80 : 188, 1959.
- 12) 長倉 他 : 結進, 26 : 172, 昭34.
- 13) 植田 : 日結, 18 : 6, 昭34.
- 14) H.C. Engbaek et al. : Acta tbc. scandinavica, 34 : 145, 1957.
- 15) 工藤 他 : 結進, 26 : 181, 昭34.
- 16) 占部 : Modern Media, 5 : 226, 1959.
- 17) Laurence G. Wayne et al. : Am. Rev. Tbc., 76 : 451, 1957.
- 18) Alice Timple et al. : J. Lab. & Clin. Med., 44 : 202, 1954.