

# 流動パラフィンに包埋し、感染せしめた場合の結核菌の病原性、 毒力の特殊な修飾について

## 3. 鳥型結核菌および M. Ulcerans

土 井 和 雄

京都大学結核研究所細菌血清学部 (指導 植田三郎教授)  
国立京都療養所 (所長 蒲田小吉博士)

受付 昭和 35 年 6 月 22 日

### 緒 論

前 2 編<sup>1)2)</sup> においては、毒力を異にする人型菌および牛型菌に流動パラフィン(以下流パラと略す)を加えてマウスに感染せしめたところ、菌型を問わず流パラの添加は、強毒菌ではその病原性、毒力の表現が低弱化され、これに反して弱毒菌および無毒菌ではそれが逆に増強されるという興味ある事実を観察した。次に流パラの添加は鳥型結核菌に対してはどのように影響するかと考え、本編においては毒力の弱い Kirchberg 株およびさらに一層弱毒の鳥獣株を用い前 2 編<sup>1)2)</sup> と同様に観察した。かたわらまた M. Ulcerans PD 株についても上記同様に実験を試みた。

### 実験その 1 Kirchberg 株

弱毒の Kirchberg 株の流パラ菌液および対照の食塩水菌液をマウスに接種し、生残日数、臓器の肉眼的病変および臓器組織内の菌の消長について比較検討した。

#### 〔方法〕

グリセリンパイオン 3 週培養の菌を 20 mg/ml になるように流パラあるいは食塩水を加えて菌液を作製した。均一系マウス H 系の生後 1 カ月の体重約 15 g のもの 60 匹を 30 匹宛 2 群に分ち、1 群には流パラ菌液を、他群には食塩水菌液の 0.5 ml (10 mg) 宛を腹腔内に接種し、各群とも 15 匹は生残日数の観察に供し、残りの 15 匹は接種後 24 時間、1, 2, 3……10, 11 週に麻酔致死せしめて、臓器病変を肉眼的に観察し、同時に肺、肝、脾および腎の臓器断面の圧印標本を作製し、Ziehl-Neelsen 染色を施して鏡検した。その他は前 2 編<sup>1)2)</sup> と同様に実施した。

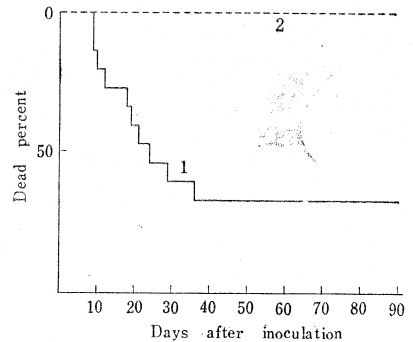
#### 〔成績〕

##### (1) 生残日数の推移

Fig. 1 に明らかなように食塩水菌液では、接種後 11 週間の観察中にはマウスは死亡しなかつた。これに反し流パラ菌液では、接種後 9 日から死亡しはじめ、36 日

後までに 10 匹のマウスが死亡した。残りの 5 匹は 11 週まで生残した。

Fig. 1 The dead percent of the mice inoculated intraperitoneally with 10 mg of Kirchberg strain.



Line 1 : mice inoculated with Kirchberg strain embedded in liquid paraffin.  
Line 2 : mice inoculated with saline suspension of Kirchberg strain.

すなわち Kirchberg 株のマウスに対する病原性、毒力は、流パラの添加によつてはじめて強く増強して表現された。

##### (2) 臓器の肉眼的変化の推移

食塩水菌液では、24 時間後腸間膜淋巴腺および大網に粟粒大の黄色の塊りを数コ認めたが、週を経るにつれ軽快し、遂には消失した。11 週間の観察でとくに異常な所見はみられなかつた。しかるに流パラ菌液では、1 週後脾を中心とした腹部臓器の癒着がみられ、2, 3 週後には肺、肝、脾等の充血が出現した。これらの充血は、1<sup>1)</sup>、2<sup>2)</sup> 編において述べた人型 F 株、牛型 RM 株および BCG 株の実験において観察したほどには強くなく、5, 6 週後には漸次軽快し、10, 11 週後にはほとんどみられなくなつた。因みに腹水の貯溜も、また結節性変化もみなかつた。

##### (3) 臓器組織内の菌の消長

食塩水菌液では、24 時間後いずれの臓器においてもごく少数の菌が存在するにすぎなかつたが、週を経るにつれ漸次増加したが、10 週後においてもその数は 1 視野に 1~数コを見出す程度にすぎなかつた。流バラ菌液では大いに趣を異にし、24 時間後すでにいずれの臓器においても多数の大小の流バラ滴の撒布があり、その表面に多数の菌を認めた。1 週後これらの菌は増加しはじめ、2, 3, 4 週と経過するにつれ網目状に配列し、遂には流バラ滴を被うにいたつた。6, 7 週を経過すると流バラ滴はやや減少し小形となり、その表面の菌数もやや減少し、一部の流バラ滴においては、増殖を思わせる上記のような配列はみられなかつた。10, 11 週ではこの傾向がさらに強くなつた。

### 実験その 2 鳥獣株

Kirchberg 株に比し毒力のさらに一層弱い鳥獣株を供試し、上記実験その 1 と同様に生残日数、臓器の病変および臓器組織内の菌の消長を検討した。

[成績]

#### (1) 生残日数の推移

食塩水菌液、流バラ菌液のいずれを問わずマウスは 6 カ月間の観察中には死亡しなかつた。

#### (2) 臓器の肉眼的変化の推移

食塩水菌液では、24 時間後大網に粟粒大の黄色の塊りを数コ認めたが、週を経過するも変化はなかつた。要するに全経過を通じてとくに記すような病変はなかつた。これに反して流バラ菌液では、1 週後腹腔内臓器のかなり強い癒着がみられ、2, 3, 4 週と経過するにつれ、これらの癒着は強くなり、少数のマウスにおいては濁濁した腹水の貯溜および肺、肝、脾等の軽い充血がみられた。6, 7 週を経過すると腹水は減少し、癒着もやや軽快した。生残日数を観察したマウスを 6 カ月後麻酔致死せしめて剖検したが、腹部臓器の癒着は 6, 7 週後剖検したマウスに比しはるかに軽減していた。以上のように流バラの添加は鳥獣株のマウスにおける病原性、毒力の表現を多少とも増強した。

#### (3) 臓器組織内の菌の消長

食塩水菌液では、24 時間後いずれの臓器にもごく少数の菌を認めたにすぎなかつたが、1 週後には菌数は増加し、2, 3 週後では各臓器とも 1 視野に数コ菌を認めた。週を経るにつれ肺を除く他の臓器では菌数は減少し、6 カ月後においては肝および腎では菌はみられなかつたが、脾ではごく少数の菌を認めた。しかし肺では 6 カ月後においてもなお 1 視野に数コ菌がみられた。一方流バラ菌液では上記とは大いに趣を異にし、24 時間後すでに各臓器に流バラ滴の撒布がみられ、その表面にやや多数の菌を認めた。1 週後各臓器とも菌数は増加し、3, 4 週と経過するに従つて明らかに網目状の配列

を示したが、流バラ滴全面を被うにはいたらなかつた。6, 7 週後では流バラ滴は減少し、また小形となり、その表面の菌は一部においてはなお増殖を思わせる配列を示したが、一部では菌が変性、崩壊した。6 カ月後では流バラ滴はかなり顕著に小形かつ少数となりその表面に変性、崩壊した弱抗酸性の顆粒状の菌体が少数みられた。なお全経過を通じ流バラ滴を離れて存在した菌はほとんど認められなかつた。上記のように使用鳥獣株はマウスに対して毒力の弱い菌株であつたが、流バラの添加によつてマウス体内で一時的であつたにしてもやや顕著な菌数の増加を示した。

### 実験その 3 M.Ulcerans PD 株

次に著者はマウスおよびラットに対して特異的な病変を惹起せしめる M.Ulcerans においては、流バラの添加によつてはたしてその病原性、毒力はどのように変貌されるかを検討しようとして下記のように実施した。なお使用 M.Ulcerans PD 株は Mac. Callum ら<sup>3)</sup>によつて分離されたものであるが、前に原田<sup>4)</sup>および著者<sup>5)</sup>が報告したように、マウスおよびラットに対して病原性、毒力のすでに非常に弱化した菌株である。

[方法]

使用 PD 株はグリセリンブイヨン、32°C、3 週培養のもので、流バラおよび食塩水を加えて菌液を作製し、それぞれの 0.5 ml (10 mg) を腹腔内に接種して、上記実験その 1 およびその 2 と同様に実施し、その結果を比較検討した。なお本菌は皮膚および睾丸に特有な病変を惹起するゆえ、それらの変化にとくに留意した。

[成績]

#### (1) 生残日数の推移

食塩水菌液、流バラ菌液のいずれを接種したマウスも、12 カ月間の観察中には事故死した 4 匹を除き死亡したものはなかつた。

#### (2) 臓器の肉眼的変化の推移

食塩水菌液では、24 時間後大網に粟粒大の黄色の塊りがみられた。1, 2 週後には脾の軽度の腫脹を認めたが、その後の経過中に正常となり、6, 7 週では病変はみられなかつた。また 6, 12 カ月後においても異常な所見はなかつた。一方流バラ菌液では、1 週後腹腔内臓器の癒着がみられ、週を経るにつれ増強したが、6, 7 週以後になると漸次軽減した。6, 12 カ月後においてもなお軽い腹腔内臓器の癒着がみられた。8 カ月後から 3 匹のマウスの耳に潰瘍を生じ、約 1 カ月にて癒痕化した。しかしながら食塩水菌液、流バラ菌液とも M.Ulcerans の感染による特異的な病変を惹起したものは 1 例もみなかつた。

#### (3) 臓器組織内の菌の消長

食塩水菌液では、24 時間後肺、肝、脾、腎および辜

丸にごく少数の菌を認めた。1, 2, 3 週と経過するにつれさらに菌数は減少し、4 週以後ではいずれの臓器とも菌は認めえなかつた。これに反し流バラ菌液では、24 時間後各臓器ともすでに多数の流バラ滴が散在し、その表面にやや多数の菌がみられた。週を経過するに従つてそれらの菌は漸次増加し、増殖を思わせる網目状の配列を示したが、流バラ滴全面を被うにはいたらなかつた。6, 7 週後から流バラ滴は減少し、また菌数も少なくなつた。6 カ月後には増殖を思わせる配列をした菌は全くみられず、径 10~20  $\mu$  内外の流バラ滴の周辺部に变性、崩壊した弱抗酸性の顆粒状の菌体のみみられたにすぎなかつた。しかし 12 カ月後においてもまれには少数の流バラ滴の周辺部に崩壊した顆粒状の菌体が存在した。なお菌は全経過を通じ、流バラ滴を離れてはほとんどみられなかつた。上記のように PD 株の流バラ菌液はたとえ一時的であつたにしてもマウス体内においてかなり顕著な菌数の増加を招来した。

### 総括ならびに考案

緒論においても述べたように、前 2 編<sup>1) 2)</sup>において人型および牛型結核菌の強毒株、弱毒株および無毒株を流バラに包埋してマウスに感染せしめると、菌型を問わず強毒株ではその病原性、毒力の表現が低弱化され、これに反して弱毒株および無毒株ではそれが逆に増強されるという興味ある事実を知つた。そこで本編においては、鳥型結核菌のマウスに対して弱毒の Kirchberg 株およびさらに一層弱毒の鳥獣株を流バラに包埋し、マウスに感染せしめた場合に鳥型菌では、上記の関係がどのように表現せられるかを観察した。また M. Ulcerans の弱毒の PD 株についても同様に実験を行なつた。ここではマウスに対して毒力の強い鳥型菌を供試することができなかつたが、弱毒の Kirchberg 株においては、流バラの添加は食塩水菌液とは全く異なり、マウスの過半数を短時日内に死亡させ、肺、肝および脾に充血をきたし、また流バラ滴とともに撒布された菌はその後の経過中に著しい増加をきたした。すなわち Kirchberg 株のマウスに対する病原性、毒力の表現は、流バラの添加の場合は食塩水菌液の場合よりもかなり顕著に増強せられた。さらに一層弱毒の鳥獣株の流バラ菌液を接種した場合は、流バラ滴に吸着され臓器組織内に撒布された菌は上記の Kirchberg 株に比較すれば多少とも少なかつたが、その後の経過中に一時的にせよかなりの増加を示した。また一時的ではあつたが肺、肝および脾に軽い充血が認められた。しかし死亡したマウスはなかつた。すなわち毒力の一層弱い鳥獣株は流バラの添加によつて、マウスに対して食塩水菌液よりもその病原性、毒力の表現は多少とも増強せられた。次に弱毒の M. Ulcerans PD 株は流バラの添加によつて、流バラ滴とともに撒布され

た菌はその後の経過中にかなりの増加をきたしたが、食塩水菌液を接種した対照と同様にマウスを死亡せしめず、また M. Ulcerans に特有な病変を惹起せしめるにはいたらなかつた。

1) 2 編<sup>2)</sup> および本編において述べたごとく人型、牛型および鳥型結核菌の強毒株、弱毒株および無毒株を流バラに包埋してマウスに感染せしめると、いずれの菌型においても強毒株では、その病原性、毒力の表現が低弱化され、これに反して弱毒株および無毒株ではそれが逆に増強されるという興味ある事実を知つた。その結果について最初に気付く点は、菌型の如何を問わず流バラ菌液としてマウスに接種すると食塩水菌液に比し、より大量の菌体が流バラ滴に吸着されて臓器組織内により連やかに撒布され、しかもこれらの菌はほとんど流バラ滴に密接し、細胞に貪喰されることなく、したがつて組織液中に露出したと考えられる状態で存在したことである。次に興味をよぶ点は、第 1 編<sup>1)</sup>において詳しく検討したように、無毒株は細胞内では増殖が許されないが、組織液中では多少ともそれが許される。また弱毒株では細胞内の増殖が初期にはかなり緩やかであるが、組織液中ではやや顕著に促進される。しかるに強毒株では細胞内での増殖はかなり顕著であるが、組織液中の増殖はやや目立って抑制される。すなわちこれらの結果は毒力を異にする上記菌株の細胞内および組織液中における増殖能力の差異、言葉を換えていえば細胞内あるいは組織液中の栄養物質の利用能力すなわち代謝能力の差異というようなことと関連して考察するほうが理解しやすいように思われる。まだ供試菌株も少ないが大體上述のようなことがいえるのではなからうか。なおこの点については人工的に毒力を低下させた INH 耐性菌等を供試してさらに実験を続けたと考える。

また弱毒株においてみられた流バラの添加によるマウスの特異的な病変および早期死亡は、第 2 編<sup>2)</sup>においても考察したように、ただ単に菌体の毒性によるものとみることは適當ではないであらう。

さらにまた無毒の H37Ra 株および鳥型菌の観察においては、流バラ滴とともに撒布された菌はその後の経過中にかなり顕著な増加をきたすが、6, 7 週を界とし週を経るに従つて漸次減少し、崩壊、变性して抗酸性を減じ遂に顆粒状となり、流バラ滴とともに消失した。一般に細菌感染の結果起る獲得性抵抗力は、菌の毒力が強いほど抵抗力が強く、また大量の菌を接種した場合のほうが強固な獲得性抵抗力を発現することが認められている。上記所見においては、流バラとともに撒布された菌がマウス体内で増殖し、そのため生体は全身的に重篤な障害を受けているものと考えられる。これが生体の抵抗力をこえたとマウスに致死的に作用するが、また一方増殖

の経過中に発展した生体の獲得性抵抗力およびその他の機転が菌発育阻止的に作用し、増殖を困難ならしめ、遂には変性、崩壊していくのではなかろうかと推測せられる。この点マウスの死亡がおよそ4週以内の早期にみられ、また菌数の減少が6,7週以後にみられるということは興味深いものがある。なおこのことについては系統的に検討中である。

一般に病原性、毒力ということを考える場合には、自然感染の場合はしばらくおくとして、人工的の感染においては、菌を蒸留水、生理的食塩水あるいはその他の水性の媒液に浮遊し、これを適当な動物の、適当な部位に与えたときに動物に惹起する病変の有無、強弱、動物の生残あるいは死亡、動物体内における菌の増殖等を観察総合して、その菌の当該動物に対する病原性の有無、毒力の強弱が判定せられるのが通常である。この場合問題になるのは菌と動物と感染部位との3つである。しかるに以上3編の実験からも明らかなように、病原性、毒力の表現を左右する今1つの条件を考えなければならない。すなわち適当な動物の、適当な部位に接種される菌液の性状がそれである。上記実験においては、通常用いられるような蒸留水、食塩水というようなものとは大いに趣の異なる流バラの中に菌を懸濁したのであるが、その結果は上記にも明らかなように非常に興味のある結果、言葉を換えていえば病原性、毒力の表現の顕著な修飾をみたわけである。ここで注意を惹く点は、この種の菌すなわちミコバクテリウムは大岩<sup>6)</sup>もすでに詳しく研究したように各種の細菌類とは異なつて流バラに吸着せられやすいという性質である。

もちろんミコバクテリウム中でも菌種によつて被吸着性に多少の強弱はあるが、少なくともこのことが初期における接種菌の臓器組織内への大量の撒布を可能にし、またその後の経過において流バラ滴の表面に密着した菌の流バラ滴を離れて細胞内に移行することを困難にするものと判断せられる。このような場合にさらに当該菌の体液中で増殖能力の有無、強弱ということが関係して、結局上記のような病原性、毒力の表現の修飾として結果せられたものではないかと考察したい。

## 結 論

鳥型弱毒の Kirchberg 株、一層弱毒の鳥獣株および

M. Ulcerans の弱毒 PD 株を流バラに包埋し、マウスに接種してそれぞれの病原性、毒力がどのように修飾されて表現されるかを検討した。

1) 使用した3株とも流バラに包埋してマウスに接種した場合は、菌は流バラ滴とともに食塩水菌液の場合よりは、臓器組織内により速やかに大量に撒布され、しかもこれらの菌はほとんど細胞に貪食されることなく流バラ滴に密着して存在した。

2) 流バラの添加は食塩水菌液に比して Kirchberg 株においては、流バラ滴とともに撒布された菌はその後の経過における増加が顕著で肺、肝、脾等に充血をきたし、またマウスを短時日に死亡させた。因みに食塩水菌液はマウスを死亡せしめなかつた。さらに一層弱毒の鳥獣株においても、流バラの添加によつてマウスを斃死せしめることはできなかつたが、それでも臓器内の菌数は一時的に増加し、肺、肝、脾等に軽度の充血を招来した。

3) M. Ulcerans の弱毒 PD 株は流バラの添加によつても食塩水菌液と同様にマウスに特有な病変を惹起し、かつこれを斃すことはできなかつたが、それでも食塩水菌液に比較すればたとえ一時的にしても菌の増殖をきたした。

稿を終わるにのぞみ、終始御指導ならびに御校閲を賜わつた植田教授、蒲田所長に深甚の謝意を表し、また終始御助言を賜わつた上坂助教授、大岩博士の御好意をあわせて感謝する。本稿の要旨は昭和35年4月第35回結核病学会総会および昭和34年10月同近畿地方会において発表した。

## 文 献

- 1) 土井和雄：結核，35：738，昭35。
- 2) 土井和雄：結核，35：831，昭35。
- 3) Mac. Callum. P. et al. : J. Path. & Bact., 60：93，1948。
- 4) 原田禹雄：皮膚科紀要（京大），34：133，昭34。
- 5) 土井和雄：京都大学結核研究所紀要，7：32，昭34。
- 6) 大岩弘治：日本細菌学雑誌，6：455，昭26。