

第 43 回 総 会 特 別 講 演

Mycobacteria の 抗 酸 性 の 生 物 学 的 意 義

国立予衛生研究所結核部長 室 橋 豊 穂

The 43rd Annual Meeting Special Speech

BIOLOGICAL SIGNIFICANCE OF ACIDFASTNESS OF MYCOBACTERIA*

Toyoho MUROHASHI

Acidfastness is the most important and essential property of Mycobacteria to specify them from other bacterial species, but the mechanism of it is still unclarified. Studies carried out on many strains of various types of Mycobacteria employing ultraviolet (UV) irradiation in combination with strong decolorization gave the following evidences :

1) The degree of acidfastness of Mycobacteria is different each other to a considerable extent. The weakest are Runyon's group IV strains and the strongest are *M. leprae* and *M. lepraemurium*. The acidfastness of *Nocardia* was far weaker than that of Runyon's group IV.

2) The use of UV irradiation in combination with a 0.1% HNO_3 -70% Ethanol as a decolorizer for 10 to 20 minutes was very efficient in the detection of differences in the degree of acidfastness of Mycobacteria. By this procedure a very simple and practical method was devised to differentiate some strains from others, even roughly, by the acidfast stain of smears with naked eye. Especially, the difference between Runyon's group III and *M. avium* seemed practically important. The use of UV irradiation for 3 hours followed by decolorization employing a 0.1% HNO_3 -70% Ethanol for 20 minutes resulted in the complete loss of acidfastness of the former, while the latter retained acidfast stain.

The above findings revealed also that the term "Acidfastness" is replaceable materially and quantitatively by the physical term "UV irradiance", and suggested that such a difference as mentioned above may be due to the different cell wall structure proper to the respective strain.

3) Marked differences among pathogenic strains to mammals with regard to acidfastness, namely the difference between Rv type and Ra type tubercle bacilli, Isoniazid resistant strains and the other drug resistant strains of tubercle bacilli, and Rv type tubercle bacilli and the difficult to culture or uncultivable Mycobacteria, respectively, suggested strongly that the cell wall structure must be primarily responsible for the parasitism of the germs, which is thought to be the first step of virulence or pathogenicity. Thus, the term "virulence" could be replaceable materially by the physical term "UV irradiance"

4) The loss of acidfastness due to UV irradiation suggested the destruction of cell wall structure by the UV energy making it porous. Accordingly, the cell wall structure was assumed to be responsible for the acidfastness supported by the further evidences that the destructed cell components, especially cell wall fraction, and also the spheroplasts prepared by the glycine-lysozyme treatment could not be stained at all acidfast. Contrary to this, however, the findings that the drastic extraction of bound lipids, which stained very strongly acidfast,

* From Chief, Department of Tuberculosis, National Institute of Health, Tokyo, Japan.

resulted in the complete loss of acidfastness of extracted cells, seemed to support mycolic acid theory being proposed for the mechanism of acidfastness. This puzzle was, however, solved clearly by the complete loss of this staining property of bound lipids immediately after mixing with yeast extract demonstrating that the strong acidfastness of lipids means strong affinity to any substances. Thus, against mycolic acid theory, the mechanism of acidfastness was believed to be explained not by the acidfast stainability of lipids, but definitively and monistically by the cell wall structure as a barrier, which is constructed tightly by lipids and other chemical components.

5) UV irradiation effect on acidfastness gave an acidfastness map, on which various types of Mycobacteria were arranged according to the degree of acidfastness. This map is very interesting to suggest that the order on this map coincides very well with other biological properties, especially with metabolic pathway.

Finally, the present author would like to say that the acidfastness solely can not be an exception of the natural rules that no morphological property exists without any biological significance.

I. 抗酸性研究の目的

抗酸性は Mycobacteria を他の細菌群から区別する最も重要な基本的性質で、一般的には「塩基性色素で染色された菌体が、3% 塩酸・エタノールの脱色作用に抵抗する現象」として理解されているが、きわめて多くの研究者によつてくり返された努力にもかかわらず、その機序に対してはいまだに明瞭な説明を欠いている。抗酸性なる性質が Mycobacteria のみに特有な、普遍的なものであるからには、その生存に必要な他の生物学的諸性質と無関係には存在しないはずであると目的論的には考えられるが、しかれば、いかなる生物学的性質といかに関連するかという点になると、なにも答えることができない。また、菌株により、あるいは培養日数との関連において、抗酸性の程度に強弱のあることがしばしば議論され、これが抗煮沸性との関係を持つことが示唆されているが、Mycobacteria のすべての菌株に関して、抗酸性の程度がいかに相違するかを客観的の定量性をもって知る方法は全く与えられていない。抗酸性は、あたかも堅固な城壁のごとくに研究者の前に立ちちはだかり、その内部のぞき見を許さず、人間に最も関係深い病原性 Mycobacteria の生物学的諸性質の探求を、ことさら困難にしているようにさえ思われる。この困難を克服するには、物質レベルからする抗酸性の機序の解析に先立つて、この菌体細胞を特異的に染める染色条件の仔細な検討と、できるならば、抗酸性を完全に失わせる方法の開発とがまず必要であると思われる。これらの条件を逆に辿ることによつて、抗酸性の機序の解析にいつそう近づきうるであろう。

以下述べる実験は、抗酸性なるきわめて古い命題を、

既成の知見に捕われぬ、全く自由な別の視野から見直すことによつて、Mycobacteria の生物学的性質への理解をいつそう深め、できれば抗酸性の機序の研究に近づく鍵を見出そうとして企てられた。

この一連の研究においては、Ziehl-Neelsen 法で常用され、一般に最も親しまれているカルボール・フクシンを一部に用いたが、多くの場合にはピクトリアブルーを用いた。ピクトリアブルー・ビスマルクブラウン同時染色法によれば、濃紺に染められた菌体を淡黄褐色の背景に色調の対比よく染め出すので菌の検出が容易であるばかりでなく、1回の加温染色ですむために、多くの標

Fig. 1. Cross-staining of Mycobacteria

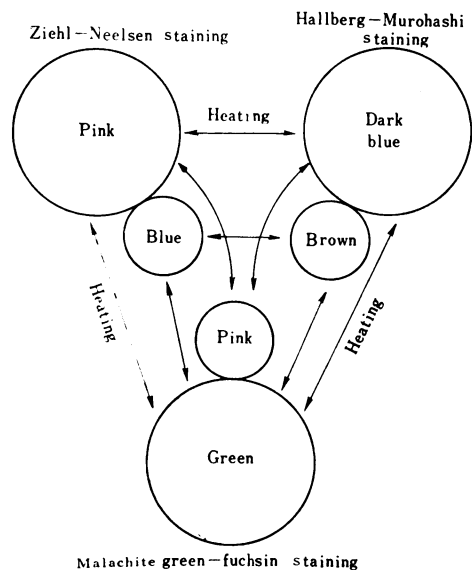


Table 1. Different Degrees of Acidfastness of Mycobacteria Revealed by the Decolorization Employing A Decolorizer, 0.1% HNO₃-70% Ethanol

Decolorizer & decolorizing time (min.)	Acidfast rods (%)									
	Sapro. M.		M fort.	Runyon's			M. avium Kirchberg	M. bovis		M hum.
	106	SY1	MF 128	P7	P6	P16		Ravenel	BCG	H2
4% HNO ₃ -EtOH : 0.5	97.5	85.9	82.1	95.3	97.6	97.5	97.4	96.7	97.9	98.4
0.1% HNO ₃ -70% EtOH										
0.5	70.4	30.3	5.0	95.1	97.5	96.5	97.3	98.3	99.3	98.1
1	16.8	20.2	2.6	90.4	96.6	93.5	95.9	99.2	97.1	98.4
3	6.4	7.4	1.7	72.0	86.8	91.2	93.3	97.5	95.3	95.5
5	4.1	3.8	0.1	82.9	84.4	93.0	87.3	97.2	91.1	92.3
10	4.3	0.4	0	67.5	75.7	92.7	81.7	94.4	78.9	89.6
20	1.9	0	0	50.0	67.6	86.3	73.6	92.6	70.9	82.0
Restaining #	88.5	72.6	95.7	92.7	97.6	91.7	96.4	98.8	97.3	96.0

After removal of cedar oil, smears decolorized by a 0.1% HNO₃-70% Ethanol for 20 minutes were stained again, and decolorized by a 4% HNO₃-Ethanol for 30 seconds.

本の検索に要する時間を節約しうる利点がある。この染色法によれば抗酸性を持つものは濃紺に染まり、非抗酸性のものは淡黄褐色に染まるのであつて、抗酸菌は、用いる塩基性色素の色如何によつて赤にも青にも染まりうるものであることをご理解願いたい。なお参考のために、菌体交叉染色の模式図²⁾を Fig. 1 に掲げたが、たとえばフクシンで赤く染められた菌体は、ビクトリアブルー染色で濃紺に染め替えられ、その逆もまた成り立つのである。

II. 抗酸染色に用いられる脱色剤の組成と作用時間の検討³⁾⁻⁵⁾

抗酸染色を特色づけるものもつばら脱色操作にあることを考えれば、抗酸性の検討にあつては、その染色方法の基本に立ちかへつて、脱色条件を仔細に調べ直す必要がある。

抗酸染色に常用されている脱色剤は、通常3% 塩酸・エタノール (100 v/v % エチルアルコール) である。酸としては、塩酸、硫酸、硝酸のいずれを用いてもよいが、われわれの経験では硝酸が最も美しい仕上りを与えるように思われたので、多くの場合に硝酸を用いた。

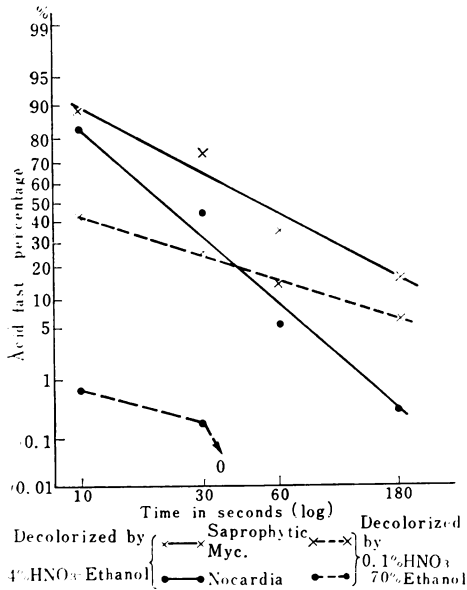
まず酸・エタノールの組成を種々に変えた場合に脱色作用がどうなるか、また通常の抗酸染色では30秒程度の作用時間であるが、これを延長すればどのようなことになるかを調べた。その結果、Table 1 に示すように、0.1~0.5%・70 v/v % エタノールが最も強い脱色力を示し、しかも作用時間を延長すると、菌型あるいは菌株に応じて、種々の程度に脱色されることが認められた。すなわち染色された菌体にこの組成の脱色剤を10~20分作用させると、Runyon IV 群 (いわゆる抗酸雑菌) は完全に脱色されて非抗酸性に染まり、その他の

菌型に属するものも種々の程度に脱色されて、菌型あるいは菌株間に抗酸性に関して程度の違いのあることが認められた。ただしこの場合の脱色は可逆的で、この脱色操作で完全に脱色されて非抗酸性に染まつた菌体も、通常の抗酸染色手技を用いて染色すれば、抗酸性に再染色されるのである。このように Runyon IV 群のみがこの操作で完全に脱色されるという点は、周知の抗煮沸性試験と相通するが、その機作としては、菌体細胞内構造物に染色した色素が解離する段階と、この解離した色素が細胞壁を通過して菌体外へ逸出する段階の2段階に分けて考察できると思われる。この考察に基づけば、この実験で示された脱色程度の違いは、おそらくは菌株あるいは菌型間における細胞壁性状——端的に厚さと表現しようとして、構造の複雑さと表現しようとして——の違いを示すものであろうと推察された。この点を確かめる意味で、超薄切片につき菌体細胞の膜系の厚さを調べたところ*、その成績は⁶⁾、M. smegmatis (Runyon IV 群) の細胞壁が Kirchberg (鳥型菌) や H₃₇Ra のそれよりも厚いことを示した。この場合、標本作製条件など考慮すべき点はあるが、細胞壁の厚さにそのような違いがあるとすれば、推察される細胞壁性状の違いは、その構造が後者においてよりいつそう複雑である点に帰せらるべきかもしれない。ともあれ、菌型間の抗酸性の程度に関しては、Runyon IV 群に属するものが Mycobacteria 中で最も弱いことが明らかにされた。

臨床検査においてときに問題とされるのは、Nocardia と Mycobacteria との鑑別である。それは Nocardia の切片が通常の抗酸染色手技では、ある程度抗酸性に染まるからである。その染まり方は普通弱抗酸性とか部分抗

* 東北大学抗酸菌研究所福士博士のご好意で超薄切片を計測していただいた。

Fig. 2. Decolorizing Trend of the Stained Cells of *Nocardia* and Saprophytic *Mycobacteria* by the Acid-ethanol of Different Compositions



酸性とか表現されているが、Ziehl-Neelsen 法のみの結果からこのように定量的な表現を用いることは適切とは思われない。いずれにせよ *Nocardia* を Ziehl-Neelsen 法などの慣用の手技で染めれば、3% 塩酸・エタノールにある程度抵抗するので、確かに抗酸性であるが、脱色剤として前述の 0.1% 硝酸-70% エタノールを用いると、Fig. 2 に示すごとく、30 秒以内の作用で完全に脱色されるので、*Mycobacteria* 中で最も抗酸性の弱い Runyon IV 群よりもはるかに弱いといえる⁷⁾。もし脱色所要時間の比をもつて、抗酸性の程度を表わしうるとすれば、*Nocardia* の抗酸性の強さは、Runyon IV 群の 1/20~1/40 ということになり、両者を塗抹標本の染色によつてきわめて容易に鑑別することができるのである。

以上の実験によつて、*Mycobacteria* 中の Runyon IV 群のみを完全に脱色せしめる脱色剤の組成と作用時間とを定めることができたが、かくて *Mycobacteria* の抗酸性の強さの下限を明らかにしたことは、以後研究を進めるうえにきわめて有力な手段を提供したといえよう。

ここで付言したいことは、*Mycobacteria* の染色における脱色剤の用い方である。すなわち被検材料から抗酸性をもつ菌体をなるべく能率よく検出しようとする目的に対しては、Ziehl-Neelsen 法などで慣用されている 3% 塩酸 (または 4% 硝酸)-エタノールを 30 秒ほど作用させるべきである。この方法で抗酸性を呈する菌体を見出し、それが *Nocardia* か Runyon IV 群であるかを区別するのであれば、0.1% 硝酸-70% エタノールを 30 秒ほ

ど作用させればよく、また Runyon IV 群か病原性 *Mycobacteria* かを区別するのであれば、この脱色剤を 10~20 分作用させればよいのである。この最後に述べた方法は、広く用いられている抗煮沸性試験よりも簡易、確実で、日常検査において Runyon IV 群を鑑別するには便利である。

III. 抗酸性を破壊する方法の検討

以上のごとく、Runyon IV 群のみを完全に脱色せしめる条件を見出し、*Mycobacteria* の抗酸性の下限を知ることができたが、その他の *Mycobacteria* はこの方法のみでは完全には脱色されない。それらの抗酸性の程度を調べるには、全く別の方法が必要となる。それにはできるならば抗酸性を完全に破壊する方法が望まれる。

Mycobacteria の抗酸性を破壊あるいは除去しようとする試みは多くの研究者によつて行なわれ⁸⁾、われわれもまた諸種の酵素を併用する化学的処理をくり返し試みたが⁹⁾、後述する結合脂質の除去以外にはすべて不成功に終わった。

上述の脱色剤の検討の途上、たまたま日光に曝された *Mycobacteria* の塗抹標本が抗酸性に染まりにくくなったことに示唆されて、おそらくは紫外線の影響であろうとの予想のもとに、抗酸性に及ぼす紫外線の影響を調べることにした¹⁰⁾。その結果、Mazda GL 15 を用いて 10 cm の距離から塗抹標本を一定時間照射したのち染色し、前述の脱色を行なうと、照射時間に応じて種々の程度に抗酸性が失われることが分かった。Mazda GL 15 から放射される光線は主として 2537 Å の波長からなり、10 cm の照射距離における照度は、照度曲線からみて、毎分ほぼ 1,200 μW/cm² と推定される。

そこで Runyon IV 群を除く *Mycobacteria* 各菌型の代表株について調べると、Table 2 のごとくで、そのすべてがそれぞれ一定時間の紫外線照射によつて完全に抗酸性を失い、0.1% 硝酸-70% エタノールの 20 分の作用により、非抗酸性に染まるようになった。抗酸性完全喪失に要する紫外線照射時間は菌型あるいは菌株によつて異なるが、抗酸性喪失経過は紫外線照射時間あるいは照射量の関数として Fig. 3 のごとく S 字型曲線を呈する。このことは抗酸性なる抽象的な言葉が紫外線照射量なる物理学的単位に置き換えられて、具体的かつ定量的に表現しうることを意味し、きわめて興味深い。Table 2 および Fig. 3 において、通常培養集落の性状などからは鑑別しにくい鳥型菌と Runyon III 群ならびに結核菌のうちの有毒株 (Rv 型) と無 (あるいは弱) 毒株 (Ra 型) との間にそれぞれ著明な差異のみられる点は注目に値する。

以上の所見を確かめるべく、各型所属の多数の保存株について抗酸性完全喪失に要する紫外線照射時間を調

Table 2. Loss of Acidfastness of Various Strains of Mycobacteria Due to Ultraviolet Irradiation for Various Time Periods

Representative strain	Per cent acidfastness after specified irradiation time (Hours)							
	0	1	3	5	7	10	13	15
H ₂	94.1	92.0	90.0	81.3	59.6	4.9	0.6	0
H ₃₇ Rv	95.9	94.5	90.4	76.0	64.2	7.3	1.2	0
H ₃₇ Ra	95.7	87.1	72.7	24.2	2.4	0		
Ravenel	96.7	90.3	86.0	81.6	59.8	7.0	1.1	0
BCG	92.8	92.9	89.0	68.3	5.6	0		
Kirchberg	94.4	84.1	69.4	52.0	19.8	0.6	0	
Runyon's								
Group I (P16)	90.9	85.0	82.0	65.4	27.4	0.8	0	
" II (P6)	85.6	78.7	53.3	31.3	6.3	0.8	0	
" III (P7)	62.7	48.8	39.1	8.9	0			

Note : Decolorization : 0.1% HNO₃-70% Ethanol, for 20 minutes.

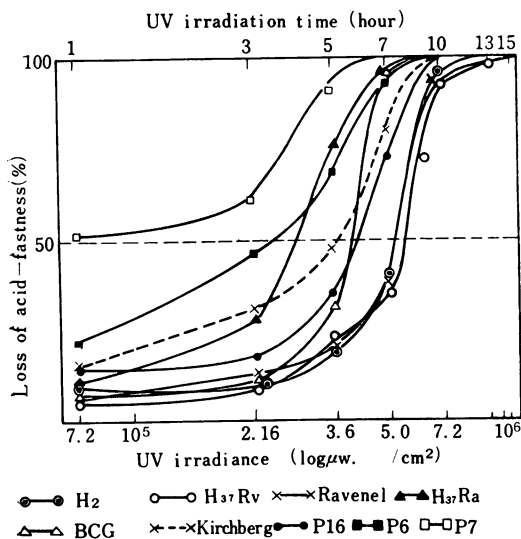
Table 3. Time Period of Ultraviolet Irradiation Required for the Complete Loss of Acidfastness of Various Strains of Mycobacteria

Mycobacteria	Number of strains examined	Number of strains that lost acidfastness completely by the specified irradiation time (Hours)							Average time (Hours)	Average # UV irradiance
		3	5	7	10	13	15	18		
Human	30				5	9	15	1	13.67 ± 0.36	9.84
Bovine	30				7	9	13	1	13.27 ± 0.38	9.55
Avian	11				1	10			12.72 ± 0.25	9.15
Runyon's Group I	11				7	3	1		11.38 ± 0.52	8.19
II	22			2	16	4			10.27 ± 0.32	7.39
III	25	4	17	4					5.0 ± 0.22	3.60

Ultraviolet irradiance : × 10⁵ μw./cm².

べたところ、Table 3 のごとくで、平均値はそれぞれ、人型菌 30 株では 13.67 時間、牛型菌 30 株では 13.27 時間

Fig. 3. Effect of Ultraviolet Irradiation on the Acidfastness of Representative Strains of Mycobacteria

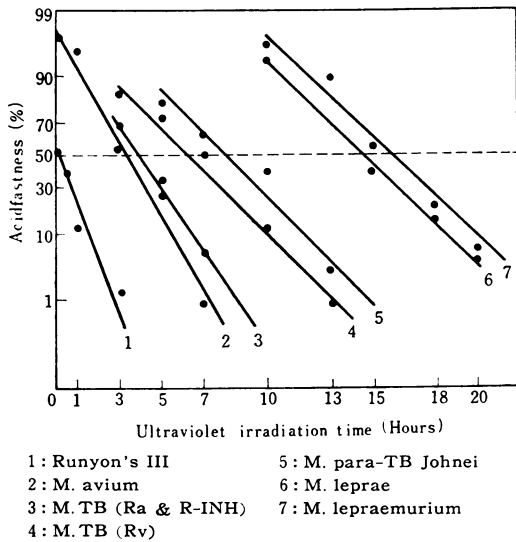


間、鳥型菌 11 株では 12.72 時間、M. kansasii 11 株では 11.38 時間、Runyon II 群 22 株では 10.27 時間および Runyon III 群 25 株では 5 時間と計算された。この値においても鳥型菌と Runyon III 群との間に顕著な違いが認められる。また人型菌や牛型菌では 10 時間から 18 時間にわたる広い範囲に抗酸性完全喪失時間が分布しているが、これは Table 2, Fig. 3 からみて毒力の違う菌株がこれらのうちに含まれていることを示唆するように思われる。

抗酸性完全喪失に要する紫外線照射時間あるいは照射量の違いは、後述するいくつかの実験によつて、それぞれの菌株を構成する菌体に固有の細胞壁構造の違いによるものではないかと推察されたが、この観点からすれば、一般に感受性動物への接種を主要な鑑別点とする鳥型菌と Runyon III 群との違いや、結核菌のうちの有毒株 (Rv 型) と無 (あるいは弱) 毒株 (Ra 型) との違いは、これらの菌の病原性あるいは宿主寄生性の違いを、菌体細胞壁構造の面から考察することの必要性を意味するといえよう。

数多くの Mycobacteria のうち、人あるいは哺乳動物

Fig. 4. Time Course Curves of the Loss of Acidfastness Due to Ultraviolet Irradiation



に最も密接な関係をもつ Runyon III 群と鳥型菌¹¹⁾、結核菌のうちの有毒株 (Rv 型) と無 (弱) 毒株 (Ra 型)¹²⁾、さらに結核菌もしくは他の Mycobacteria と類菌¹³⁾ などは、それぞれ培養性状や形態学的諸性質に類似性が高いために通常の検査のみでは鑑別の困難なことが多い。そこでこれらの菌型あるいは菌株に属する多数の菌株を用いて、紫外線照射による抗酸性喪失経過を比較した。各照射時間ごとに平均抗酸性 % を算出して正規確率紙にプロットすると、上記のそれぞれの菌型あるいは菌株ごとに、抗酸性喪失経過は直線で表わされ、50% 抗酸性喪失に要する紫外線照射時間あるいは照射量をもつて、相互に抗酸性の程度を比較しうるのである。すなわち Fig. 4 に示すごとく、紫外線照射 3 時間で Runyon III 群が非抗酸性に染まるのに対して鳥型菌は 50% 程度の菌が抗酸性を保持し、6~7 時間の照射で無 (あるいは弱) 毒結核菌 (Ra 型) が非抗酸性となるのに対して、有毒結核菌 (Rv 型) はほぼ 50% に抗酸性を維持し、また有毒結核菌が 15 時間の照射によつて完全に非抗酸化するのに対して、類菌はなお 50% 程度抗酸性を維持するのである。

ここで注目すべき点は、培養条件の複雑な *M. paratuberculosis*, *Johneii* は、抗酸性を失うのに Rv 型結核菌よりもやや長時間の照射を要し、また、いまだに培養不可能な類菌、鼠類菌ははるかに長く、Rv 型結核菌の 2 倍以上の時間照射しないと抗酸性が失われない。成書には、「類菌や鼠類菌は結核菌より抗酸性がやや弱く云々」と記されているが、われわれの実験条件で検討したかぎりにおいて、これらの菌は培養可能な Mycobacteria 中最強と思われる Rv 型結核菌よりも格段に強い抗酸性を持つことが明らかにされたのであつて、この点の記述

は書き改められる必要がある。このことはまた類患者から分離された Mycobacteria が果たして類菌なりや否やを識別するための重要な鑑別点として役立つであろう。ともあれ、人工培養が困難あるいは不可能といわれ、もつぱら人あるいは特殊な動物にのみ寄生性を示すこれらの Mycobacteria がきわめて強い抗酸性を有することは、病原性の第一段階ともいべき生体内寄生に対して菌体細胞壁構造がおそらくは深い関係をもつことを示すものと考えられ、きわめて興味深い。

また結核菌の薬剤耐性株のうち、INH 耐性株はモルモットに対して病原性の弱いことが知られている。そこで H₃₇Rv, H₃₇R-SM および Ravenel を用いて試験管内で種々の濃度の INH に耐性の菌をつくり、それらの抗酸性の強さとモルモットに対する病原性との関係を調べた¹⁴⁾。その結果、1 mcg/ml 以上の INH に完全耐性になると、紫外線照射による抗酸性喪失経過は、親株の菌型、毒力あるいは他の薬剤耐性とは無関係に、Ra 型結核菌と全く同様になることが示され、しかもモルモットに対する病原性もまた Ra 型結核菌とほぼ同程度に減弱していた。次に多数の wildstrain について調べたところ、既治療肺結核患者由来の 5 mcg/ml 以上の INH 完全耐性菌のすべてが、INH 単独耐性とか SM や PAS を含む 2, 3 剤耐性とかにかかわりなく、いずれも Ra 型結核菌と同様の抗酸性喪失経過を示し、同時にモルモットに対して明らかに弱毒であつた。INH 1 mcg/ml 以上の完全耐性となるに伴うモルモットに対する病原性の著しい減弱と、菌体抗酸性の明らかな減弱との間の高い相関は、Rv 型結核菌と Ra 型結核菌との間にみられた抗酸性の程度の違いと相俟つて、結核菌の病原性に対する菌体細胞壁構造の関与を強く示唆するとともに、INH 耐性化の機序の考察に対して、細胞壁構造の面からの検討もまた必要であることを思わせる。INH 耐性菌に関するこの知見は、治療中の患者から排出される結核菌が、INH 1 mcg/ml 以上完全耐性であるか否かをおおよそ見当つけるための簡便法として実際に利用しうであろう。

INH 以外の薬剤に対する耐性菌では、親株である Rv 型結核菌と抗酸性の程度はほとんど変わらない。とくに SM の供給なしには増殖しえない Rv 型結核菌由来の SM 依存株 (H₂-18 b) が、Rv 型結核菌と同様の抗酸性を呈したことははなはだ興味深く、この菌が本質的には有毒結核菌であることを示したといえよう。Rv 型、Ra 型結核菌と薬剤耐性結核菌の抗酸性喪失経過を一括すれば Fig. 5 のごとくである。

Fig. 4 および Fig. 5 において容易に求められる 50% 抗酸性喪失に要する紫外線照射時間を目安にして、Table 4 のごとき総括表が作られたが、この表によれば菌液の塗抹標本の抗酸性の有無によつて、上述の類似性

Table 4. Differentiation of Mycobacteria by the Acidfast Stain of Smears after Ultraviolet Irradiation

Acidfast stain	Preliminary UV irradiation time (hours)			
	0	3	6~7	15
-	Saprophyt. M. M. fortuitum	Runyon's III (Battey)	M. tuberculosis (Ra type & R-INH)	M. tuberculosis (Rv type)
+	Other types of Mycobacteria	M. avium	M. tuberculosis (Rv type)	M. leprae & M. lepraemurium

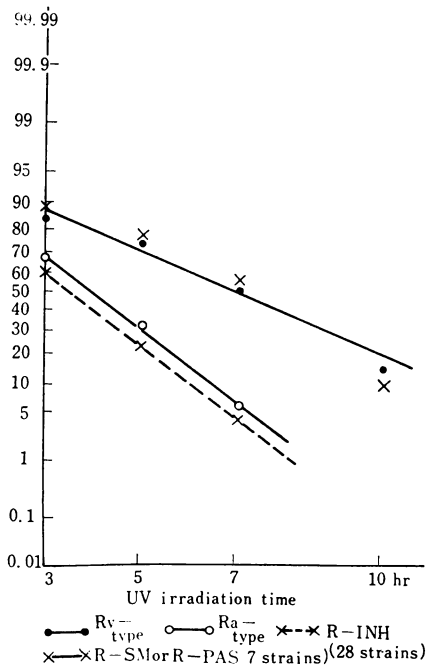
Note: Decolorization: 0.1% HNO₃-70% Ethanol, for 20 minutes.

Table 5. Loss of Acidfast Stain in A Decolorizer after UV Irradiation for the Respective Time Period Mentioned Under the Strain Name

Rinsing time (minute) in decolorizer*	Strain name and respective UV irradiation time (hour)								
	H ₂ ₁₈	H ₃₇ Rv ₁₈	H ₃₇ Ra ₁₃	Ravenel ₁₈	BCG ₁₃	P16 ₁₃	P6 ₁₀	P7 ₇	No. 106 _{1/6}
1/6	20.9	47.7	14.8	38.6	12.6	8.7	7.1	8.9	4.5
1/3	—	—	—	10.7	—	—	—	—	2.3
1/2	10.7	15.0	10.8	8.3	6.9	4.6	5.0	5.8	0.9
1	7.4	8.1	2.9	8.1	2.7	3.7	5.2	3.4	0
3	3.4	5.9	1.2	6.6	2.1	1.6	1.7	1.6	
5	1.4	2.8	0.5	3.3	1.4	1.5	0.8	0.7	
10	0	1.3	0	1.2	0	0	0	0	

* 0.1% nitric acid 70% ethanol
Numbers in table are the per centage of acid-fast rods.

Fig. 5. Time Course Curves of the Loss of Acidfastness of Tubercle Bacilli with Different Virulence or Drug-susceptibilities



の高い諸菌株を肉眼的に識別する簡易な検査方法を設定することができる。

以上の実験から得られた知見は、Mycobacteria の毒

性、病原性あるいは寄生性なる言葉で表現される抽象概念が、紫外線照射量なる物理的単位に置き換えられて、具体的定量的に表現されうることを示した点できわめて興味深い。

IV. 紫外線照射による抗酸性喪失の機序

冒頭に述べた脱色条件の検討において、Mycobacteria の菌型あるいは菌株ごとに脱色の程度を異にすることから、抗酸性の程度の違いは barrier としての細胞壁構造の違いによるのではないかと推察したが、さらに前項に述べた紫外線照射による抗酸性喪失経過の著しい違いは、いよいよその推察の確からしさを裏書きするよう思われた。しかりとすれば、紫外線照射による抗酸性の喪失は、紫外線・エネルギーによつて細胞壁構造が破壊されて、barrier としての機能を失うほどに多孔性になつたためであろうと推察される。このことからまた抗酸性完全喪失に要する紫外線照射量の違いは、菌株間における細胞壁構造の違いを端的に表現するものといふのであろう。そこで長時間紫外線を照射されて非抗酸化した菌体において、細胞壁の状態が如何になつているかを調べるために次の実験を行なつた¹⁰⁾。

抗酸性を完全に失う程度以上の長時間紫外線を照射した菌塗抹標本を加温染色し、脱色剤に挿入して、挿入時間の経過に伴う抗酸性菌体の残存率を調べたところ、すべての被検菌が $Y=A-BX$ なる直線式で表わされる脱色経過を示し、Table 5 のごとく、これらの菌は

Runyon IV 群並みあるいはそれ以下の抗酸性のレベルになつた。すなわちあらかじめ一定時間紫外線を照射することにより、菌型の如何にかかわりなく、0.1% 硝酸-70% エタノールの脱色作用に抗しえなくなつたのであり、この現象は、紫外線エネルギーによる細胞壁構造の損傷が、脱色剤に対する抵抗性を不可逆的に失わしめたと解しうるのである。この見地に立てば、Mycobacteria の細胞壁構造の特異性こそは抗酸性の機作の主要部分をなすであろうとの推察が可能とならう。

次に塗抹標本の半分を黒紙とアルミ箔でおおつて紫外線を遮断するようにしておき、十分時間紫外線を照射してから、濃厚なカルボール・フクシン原液を注いで瞬間的に染め、水洗せずに吸湿、乾燥して鏡検した¹⁰⁾。その結果、紫外線を遮断した部分の菌体は染色されずに赤い背景に白く太くみえるのに対して、照射された部分のそれはフクシンで赤く染まつていた。この所見は、紫外線照射による細胞壁の損傷の結果として、濃厚な色素液の細胞内への侵入が容易になつたことを示すといえよう。

Mycobacteria の抗酸性の機序を考える場合に、抗酸性とグラム染色性との関係をも明らかにしておく必要がある。周知のように、Mycobacteria 菌体はグラム染色によつてグラム陽性顆粒の連鎖として認められ、これは培養の新旧や抗酸性の強弱に関係せず、最も抗酸性の弱い Runyon IV 群でも Rv 型結核菌と同様の所見が認められる。したがつて、この染色法は抗酸染色とともに病的材料からの Mycobacteria の検出にしばしば用いられている。しかし人によつてはこの両染色の機序を同一視する向きもあるので、この点を明らかにすべく次の実験を行なつた。

まず各菌型代表株を用いて、それぞれ抗酸性を完全に失うに要する限度以上の時間紫外線を照射した標本を染色し、0.1% 硝酸-70% エタノールに20分挿入して脱色し、抗酸性を示す菌体が全く存在しないことを確かめてから、セダー油を除いてグラム染色を施した。その結果、被検菌のすべてが非照射対照と全く同様にグラム陽性を呈した。すなわち抗酸性を完全に喪失させる程度

の紫外線照射量ではグラム染色性は影響を受けず、きわめて安定した性質とみることができ。次に紫外線照射時間を延長して、グラム染色性がいかなる経過を辿つて失われるかを、BCG と *M. lacticola* (Runyon IV 群) を用いて調べた。成績は Table 6 のごとくで、照射20時間まではグラム染色性に変化はみられないが、これを過ぎて22~25時間ころから急速にそれが失われていくことが示された。そこで既往のブドウ球菌のグラム染色性破壊に関する実験¹⁵⁾を参考にして、RNase (500 mcg, 37°C, 3時間) を各照射時間ごとに作用させてみたが、グラム染色性の失われ方は、この処置によつてもならん影響を受けなかつた。この所見のみから結論づけることは大胆にすぎると思われるが、長時間の紫外線照射によつて細胞壁が多孔性になつたとしても、その孔の大きさはRNaseのような大きな酵素蛋白分子を自由に侵入せしめるほどには大きくないであろうと一応推察された¹⁰⁾。

以上の実験成績は、紫外線照射による抗酸性の喪失が、細胞壁構造の破壊に基づくであろうとの推察を支持するごとく思われ、したがつて抗酸性の機序の主要な部分を細胞壁構造に帰することができるのではないかと考えられる。この考えは、別に行なわれた金井¹⁶⁾や水口¹⁷⁾の実験成績によつても支持されるように思う。

金井は、未染色および抗酸染色を施した *H₃₇Ra* 菌体を Waring blender を用いて破壊し、菌体構造部分を遠沈によつて分画採取し、それらの染色性を調べた。その結果、細胞壁画分は染色性を持たず、顆粒画分および液体画分は染色はされるが3% 塩酸-エタノールで容易に脱色されることを観察し、Mycobacteria の抗酸性は細胞壁の透過性によるものであらうと推論した。

水口および徳永は、グリシンとリゾチムを用いて Mycobacteria の spheroplast を作り、これに抗酸染色を施したところ、すべてが非抗酸性に染まるのをみた。

以上の知見を総合すれば、抗酸性の機序として、色素の逸出を防ぐ barrier としての細胞壁の特異な構造、あるいはそれに基づく透過性を主として考えることはいよ

Table 6. Effect of UV irradiation on the Gram Positiveness of BCG and *M. lacticola*

Strain		UV irradiation time (hour)						
		0	10	15	20	22	25	30
<i>M. lacticola</i>	Total cell number	4,551	—	4,544	4,449	4,088	4,857	—
	Gram (+) %	99.9	—	99.6	66.3	27.9	0	—
BCG	Total cell number	1,289	1,759	1,938	2,125	—	1,399	2,031
	Gram (+) %	99.9	99.3	97.8	93.9	—	13.8	1.2
BCG*	Total cell number	—	2,341	2,388	1,840	—	2,015	1,890
	Gram (+) %	—	98.5	97.4	92.2	—	11.0	0.7

* Treated with RNase (500 µg) at 37°C for 3 hours immediately after UV irradiation for respective time period.

いよ適切のように思われる。

V. 抗酸性と菌体脂質との関係—抗酸性の機序に対する考察

しかしながら、抗酸性の機序を物質レベルにおいてミコール酸に帰そうとする考えが一方には存在する。しかしとすれば、これを含めぬ寄生虫卵が抗酸性を呈したり、これを含むにもかかわらず、機械的損傷を受けた菌体細胞、細胞破壊によつて分画された菌体部分や細胞壁を一部附着している spheroplast などが非抗酸性を呈する事実をいかに説明すべきであろうか。その意味で、菌体脂質の検討は興味もあり、是非なされる必要がある。

近藤ら¹⁸⁾は、菌型を異にする数株の *Mycobacteria* をソートン培地に培養して菌体を集め、Anderson-Lederer 法で脂質を抽出した菌体残渣をさらに Folch 法で処理して結合脂質を抽出した。この脂質抽出の各過程において得られた菌体残渣および抽出脂質を染色するとともに、さらにこれらに紫外線を照射して染色性の変化を調べた。

菌体残渣についてみると、慣用の染色手技によるかぎり、結合脂質を抽出してもなお抗酸性を呈していたが、0.1% 硝酸-70% エタノールを用いて 20~30 秒脱色すると、抽出の各段階に応じて抗酸性の染まりを減じ、結合脂質抽出によつて全く非抗酸を呈するにいたつた。

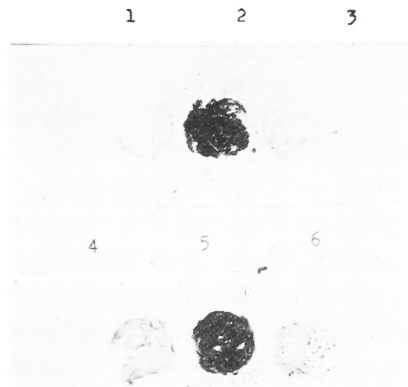
次に抽出された脂質をまず乾燥菌体重量に対する % で比較すると、脂質総量および総ミコール酸量は抽出法ごとに被検菌株によつてかなり相違し、*M. fortuitum* と他の *Mycobacteria*、また $H_{37}Rv$ と $H_{37}Ra$ のそれぞれの間にはミコール酸量に明らかに差異があり、抗酸性の強さとある程度の関連があるように思われた。しかし *M. phlei* と BCG や今村株、 $H_{37}Rv$ と $H_{37}Rv-R-INH$ のそれぞれの間には著明の差はなく、抗酸性の強さと必ずしも相関しない。とくに興味を惹いたのは脂質の染色性で、慣用の手技ではもちろん、上述の脱色剤を用いても明らかに強い抗酸性を呈し、しかもこれらの脂質の塗抹標本に紫外線を照射したところ、*M. fortuitum* 由来のものは比較的速やかに抗酸性を失つたが、*M. phlei* のそれは 10 時間、BCG その他のそれは 20~40 時間の照射によつてもなお弱いながら抗酸性を保持した。この照射時間は、それら脂質が由来した菌体細胞では完全に抗酸性を失うに十分な時間をはるかに超越している。もつとも、この場合の塗抹標本は脂質 200 mcg 程度を塗抹してあるから菌量に換算すれば非常な大量になるわけで、菌体細胞と抽出された脂質の抗酸染色性を奪うに足る照射時間をそのまま比較することは適切でないかもしれない。

結合脂質の抽出によつて菌体が非抗酸化したことで、抽出された脂質が強い抗酸性を呈ししかも紫外線照射に

よつて抗酸性を失つたことを直線的に結びつけることができるとすれば、あるいは抗酸性の担い手を主として結合脂質と考えることになるかもしれない。しかしそう考えるにはまだ問題がありそうに思われる。すなわち菌体重量のおよそ 30~40% も含まれ、したがつておそらくは細胞壁構造の主要部分を形造つていであろうと考えられる脂質の抽出を行なつたのであるから、この苛酷な処理によつて菌体細胞はきわめて強い傷害を蒙つたであろうことは想像に難くない。その程度は紫外線照射の場合に考えられるよりもおそらくはるかに高度のものと推察される。したがつて結合脂質抽出後の菌体の非抗酸化は、この処理による細胞壁の強い傷害によつてもたらされたとみることができよう。ただしこの場合、抽出された脂質がはなはだ強い抗酸性を示した事実を見逃すわけにはゆかない。しかれば、この強い抗酸性を持つ脂質を含むにもかかわらず、前項に述べたように、細胞壁や他の細胞画分が抗酸性に染まらぬことや、脂質の抗酸性の程度にはそれぞれの菌株間にみられたような大きな差がみられないという、矛盾ともみえる現象は、次のように説明できるのではあるまいか。

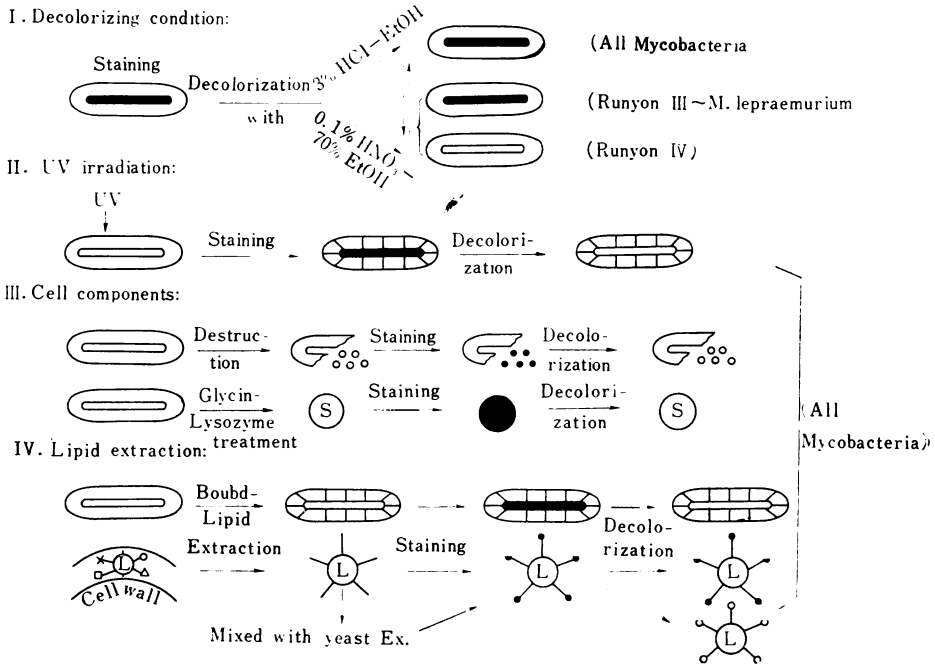
すなわち諸種の溶媒で抽出された脂質、とくに結合脂質は、細胞の構築物の一部として存在する場合とは異なつた状態になつていのではないか、という点である。細胞の構築物としての状態では蛋白や糖などの強い結合によつて飽和され閉鎖されていた部位が、抽出によつて開放されて、その不飽和部位が色素と強く結合するようになったのではないかと考えるのである。このように考えれば、抗酸性への脂質の関与は、抽出された状態での色素に対する強い染色力としてではなくて、むしろ前

(Photo.) Acidfast Staining of Bound Lipid Extracted



- 2: Untreated lipid from *M. phlei* (acidfast)
 1: Lipid from BCG } Mixed with yeast Ex
 3: " } *M. phlei* (non-acidfast)
 5: Untreated lipid from BCG (acidfast)
 4: Lipid from BCG } Mixed with yeast Ex
 6: " } *M. phlei* (non-acidfast)

Fig. 6. Summary of the Experiments to Help Understanding of the Mechanism of Acidfastness



述した色素との結合で示された強い結合をもつて蛋白その他の物質と強く結びつき、細胞壁を鞏固に構築するという、菌体細胞にとってはきわめて重要な構造部分を形造る点に意義を有すると考えたのである。この点を確かめるために次の小実験を行なつた。

抽出された結合脂質に酵母エキスを混じて、ただちに塗抹、乾燥して染色し、これを0.1%硝酸-70%エタノールに挿入したところ、非処理の結合脂質は抗酸性を呈したが、酵母エキスを混じたものは瞬間的に脱色されて、非抗酸性に染まつた(写真)。これは酵母エキスには蛋白や糖などが含まれているので、それらと脂質とが鞏固に結合してしまい、もはや色素が脂質と結合しえなくなつたためと考えられる。この小実験の成績から、抗酸性に対する脂質の役割についての上述の考察は肯定しうらと思われる。

以上の実験成績に基づいて、抗酸性の機序は、菌体細胞壁構造に帰せられると考えるが、この考察の経路を明らかにするために、本研究の総括を模式図としてFig. 6に示した。この考察に基づいて、物質としてのミコール酸ではなしに、それを主要構築物として含む細胞壁のbarrierとしての機能に帰することができると思われるのであり、長い間論議的であつた抗酸性の機序が、一元的に矛盾なしに健全な細胞壁の物理的性質として明快に説明されたと信ずるのである。

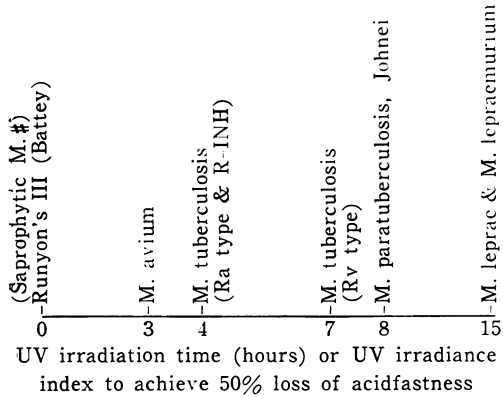
脂質を多量に含む細胞壁は、菌体細胞自体に対しては、それを外界から護る鞏固なbarrierとして保護的に

働いてあろう。そして菌が宿主細胞内にある場合には、より好適な生活環境を作るようにいろいろな物質——たとえば cord factor のようなもの——を放出するであらう。それらは宿主に対して抗原としての働きかけをすることにもなるであらう。とくに病原性 Mycobacteria の生物学的諸性質を対宿主関係においてより深く理解するためには、細胞壁の、そしてとくに脂質の研究は重要な意義をもつ課題というべきであらう。

VI. 抗酸性地図

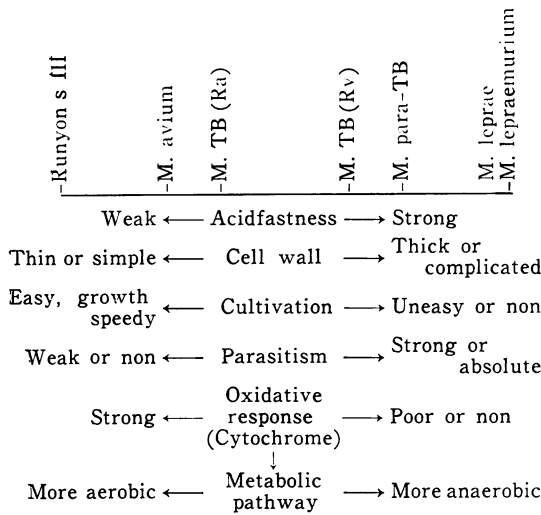
抗酸性の最も弱い Runyon IV 群から、最も強い鼠蹩菌にいたるきわめて多数の Mycobacteria が、菌型あるいは菌株に応じて抗酸性の程度を異にすることを以上一連の実験は示した。これらの Mycobacteria のうち、その性状に類似性が高く通常の検査方法では鑑別に困難の多いものについて、紫外線照射による抗酸性喪失経過を一括すれば Fig. 4 のごとくである。この図から、50%抗酸性喪失に要する紫外線照射時間を座標とする直線上に、それぞれの菌株あるいは菌型を位置づけることができる。かくして抗酸性地図が作られた(Fig. 7)。この地図上に、Runyon III 群から鼠蹩菌にいたる Mycobacteria が、それぞれの抗酸性の程度に応じて整然と排列される。紫外線照射による抗酸性喪失速度の遅速を細胞壁構造の複雑さと考えうるとすれば、それらの位置の隔りは、それぞれ固有の細胞壁構造の違いを意味するといえるであらう。したがつて右に位置するほど細胞壁構造

Fig. 7. Acidfastness Map.



* Saprophytic Myc. are decolorized completely within 20 minutes' rinsing in 0.1% HNO₃-70% Ethanol without previous UV irradiation.

Fig. 8. Significance of Acidfastness-map.



の複雑さを増すと考えてよいであろう。

さらに他の生物学的性質との関係を見ると、Fig. 8のごとくで培地上の発育速度は左に進むほど速く、培地組成や培養条件は右に進むほど複雑となり、ついには培養不能の菌群に達する。このことは同時に生体寄生性の程度と密接に関連し、右に進むほど寄生性が強く、最も右に位置する菌群は絶対寄生性である。培養の難易と寄生性の強さとは、生化学的に既知の諸種の基質に対する Oxidative Response¹⁹⁾²⁰⁾ の程度と平行し、培養不能性、絶対寄生性を示す菌群に Cytochrome 系が検出されないという知見²¹⁾はこれを裏づける。かくて抗酸性地図に示された抗酸性の程度の序列は、つまるところそれらの Mycobacteria の生存、増殖に欠くべからざる物質代謝様式の違いを示唆するのであり、左方に位置する菌株ほどより好氣的に、右方に位置する菌株ほどより嫌氣的に代謝を営むであろう。この後者は、少なくともそ

の発育の初期には解糖 glycolysis によつてエネルギーを獲得しているのではあるまいか。この観点からすれば、現在培養に特殊な培地条件を必要とされている M. paratuberculosis, Johnei は有毒結核菌よりも多少なりとも好氣的傾向が少なく、また、これらの菌よりはるか右方に離れて位置する菌類や鼠菌類は、きわめて限定された microaerophilic (弱性好氣性) な環境条件においてのみ生存、増殖しうるのではあるまいかと想像されるのである。したがつて、これらの菌に対する培養条件は、この点を十分考慮に入れて検討される必要があろう。

VII. むすび

Mycobacteria の抗酸性に関する研究は、これまで多くの場合に、染色手技の改良とか、あるいは抗酸性の機序を解き明かそうとする方向にのみ努力が費されてい、抗酸性なる Mycobacteria に特有な性質が他の生物学的性質といかに関連するかという点はもちろんのこと、数多くの菌株間に抗酸性の程度に差異のあることなどは少しも明瞭に示されていなかった。そこでまず抗酸性を特色づける脱色条件に立ち戻つて、抗酸性の強さの下限を規定する脱色条件を検討、確定したのち、それ以上強い抗酸性をもつ菌株を、この下限の Mycobacteria の水準にまで近づけるための前処理条件を探索して、ついに紫外線照射による方法を設定した。この2条件の設定は平面幾何学の作図における2定点の設定にも等しく、これによつて抗酸性の強さという漠然たる概念は、一定組成の酸・アルコールの一定の作用時間と、紫外線の一定時間照射という物理学的単位との組み合わせで具体的に定量性をもつて示され、数多くの Mycobacteria がそれぞれ一定の値をもつて整然と抗酸性地図上に序列づけられる結果を生んだ。

この一連の研究は、実際面においては、培養性状のみでは鑑別の難しい菌株を鑑別するためのきわめて簡易な検査方法を提供したが、他方、抗酸性のみならず宿主寄生性あるいは病原性なる抽象的概念をも、紫外線照射量なる物理学的単位に置き換えて定量的に具体化することができ、そのような性質を菌体細胞壁構造の面から検討する必要のあることを指摘した点で、はなはだ示唆に富むものと思う。この研究はまた、長らく論争的であつた抗酸性の機序に対して、ミコール酸説を斥け、固有の菌体細胞壁構造の barrier としての機能に存すると考えることによつて、その機序を一元的にしかも事実矛盾せず説明しうることを強調した点で注目に値すると思う。また抗酸性地図の設定は、とくにいまだに培養しえざる Mycobacteria の代謝様式に対してある程度示唆を与えるに役立つと思われる。

Mycobacteria の抗酸性は、この性質がこの菌群に特有な、しかも普遍的なものであるだけに、それらの菌の

生存、増殖に必須な他の生物学的諸性質と無関係には存在しないはずである。このことは、すべての生物において、その形態学的性質が、生存、増殖のための生物学的諸性質と有機的な関連のもとにあるという自然の法則を考えれば至極当然のことといえるのであつて、Mycobacteria といえども 独りその自然の法則の埒外にはありえないのである。

本報告を終るに当たり終始労苦をとみにされた吉田幸之助技官、また多数の菌株を分与下さつた国立療養所中野病院長馬場博士、超薄切片をご検討いただいた東北大学抗酸菌研究所福士博士、貴重なデータを貸与された金井・水口・徳永・近藤の諸博士を初めとする予研結核部の諸氏に謝意を表する。

最後に、榮譽あるこの席を与えられた岩崎会長に深謝する。

文 献

- 1) 室橋豊穂・吉田幸之助：Hallberg 結核菌染色法の一変法 (Victoriablue による染色), 日本医事新報, 1609, 27, 昭 30. 結核菌検査指針, 昭 39. 公衆衛生協会版.
- 2) 室橋豊穂：Malachitegreen-fuchsin 法による細菌細胞分別染色の生物学的意味, 医学のあゆみ, 39: 69, 昭 36.
- 3) 室橋豊穂・吉田幸之助：Mycobacteria の抗酸性の強弱と之を応用した抗酸雑菌鑑別の簡易な方法, 日本細菌学雑誌, 18: 405, 昭 38.
- 4) 吉田幸之助：抗酸染色に於ける脱色剤について, 日本衛生検査技師会雑誌, 13: 61, 昭 39.
- 5) 加藤睦子：遠沈管内染色によつて抗酸雑菌及び non-photochromogen を他の抗酸菌から鑑別する簡易な方法, 日本衛生検査技師会雑誌, 13: 526, 昭 39.
- 6) 福士主計：私信.
- 7) 室橋豊穂・吉田幸之助：抗酸染色による Mycobacteria と Nocardia の鑑別, 結核, 41: 407, 昭 41.
- 8) Hanks, J.H.: Evaluation of the physiologic state of *M. leprae* by cytologic methods, Transactions of VI th Intern. Congr. of Leprology, 53, 1958.
- 9) 室橋豊穂・関又蔵：酵素による細菌細胞の融解, II. Chloroform 処理を行つた抗酸菌々体の酵素による融解について, 日本細菌学雑誌, 13: 842, 昭 33.
- 10) 室橋豊穂・吉田幸之助：Mycobacteria の抗酸染色並びにグラム染色性に及ぼす紫外線照射の影響, 日本細菌学雑誌, 20: 76, 昭 40.
- 11) 室橋豊穂・吉田幸之助・加藤睦子：紫外線照射による抗酸性喪失経過の差を応用した鳥型菌と non-photochromogens との簡易な鑑別法, 日本細菌学雑誌, 20: 594, 昭 40.
- 12) 室橋豊穂・吉田幸之助：紫外線照射による抗酸染色性の喪失と結核菌の Virulence との関係, 日本細菌学雑誌, 20: 233, 昭 40.
- 13) 室橋豊穂・吉田幸之助：培養困難或いは不可能な Mycobacteria の抗酸性に及ぼす紫外線照射の影響, 日本細菌学雑誌, 21: 661, 昭 41.
- 14) 室橋豊穂・吉田幸之助・加藤睦子：薬剤耐性結核菌, 特に INH 耐性菌の抗酸性に及ぼす紫外線照射の影響, 日本細菌学雑誌, 21: 164, 昭 41.
- 15) 室橋豊穂・吉田幸之助：Malachitegreen-fuchsin 法による *Staphylococcus aureus* 分別染色の生物学的意義, I. 染色機序, 特に Gram 染色性との関係, 日本細菌学雑誌, 14: 672, 昭 34.
- 16) Kanai, K.: The staining properties of isolated mycobacterial cellular components as revealed by the Ziehl-Neelsen procedure, Am. Rev. Resp. Dis., 85: 442, 1962.
- 17) 水口康雄・徳永徹：グリシン処理ミコバクテリアの性状, 第 22 回日本細菌学会関東支部総会, 昭 42.
- 18) 近藤瑩子・室橋豊穂・吉田幸之助：Mycobacteria の抗酸性, とくにマイコール酸との関連, 第 43 回日本結核病学会総会, 昭 43.
- 19) Hanks, J.H. & Gray, T.: The metabolic properties of Mycobacteria and the pathogenesis of mycobacterial disease Advance in TB Research, 7: 1, 1956.
- 20) Hanks, J.H.: The biochemical properties of noncultivated Mycobacteria, Ann. of the N. Y. Acad. Sci., 88: 1087, 1960.
- 21) 日下・山之内・庄司・森・伊藤・佐藤：In vivo BCG 菌の分離集菌法と in vivo 及び in vitro 抗酸菌の Cytochrome の比較, レブラ, 33: 28, 昭 39.

第 43 回 総 会 シ ン ポ ジ ウ ム

II. 結 核 予 防 方 策 の 再 検 討

座 長 島 尾 忠 男

The 43rd Annual Meeting Symposium

II. REVIEW OF TUBERCULOSIS CONTROL MEASURES*

Chairman : Tadao SHIMAO (Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association)

Reporters : Shizuo OKADA (Osaka Branch, Japan Anti-Tuberculosis Association)
Kunio AOKI (Department of Preventive Medicine, Nagoya University, School of Medicine)

Akira OHMI (Health Control Center, Fuji Bank)

Ryoji TAKAI (Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association)

Takashi ISHII (Sapporo Railways Hospital, Japan National Railways)

The epidemiological situation of tuberculosis has been improving markedly in the recent years, and the decline was more distinct among younger generations and employees of bigger enterprises. Based on this fact, review was made on the future plan of tuberculosis control measures. Discussions were focused on the following points: 1) high risk group at present in Japan, 2) interval of the mass chest X-ray survey, 3) significance and problems in tuberculin testing, 4) future plan of the mass BCG vaccination programme, and 5) problems in chemoprophylaxis.

1) Tuberculosis control programme in the future must be intensified and focused on high risk groups. Many valuable experiences on high risk group at present in Japan were presented by five reporters, and the results are summarized in Table 1.

2) According to the Tuberculosis Control Law, all the Japanese population except small children is subjected to the mass chest X-ray survey once a year. Comparison was made on the severity of disease according to the interval between the past and present X-ray survey. Cavitory cases and bilateral disease were found oftener among cases with interval longer than one year than those with interval one year or less. Clinical course of the disease was also worse in the former than in the latter. Thus, there is no reason to prolong the interval of mass chest X-ray longer than one year.

Overlooking of small lesions was inevitable even by expert readers, and it was more frequently seen when the quality of films was poor. Cautions must be made to keep the standard of mass chest X-ray survey on higher level by taking films with good quality and by careful reading.

3) Old Tuberculin will be replaced by PPDs from coming October. Although tuberculin testing is a reliable method for the diagnosis of tuberculous infection, certain confusion was

* From Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association, Kiyose-machi, Kitatama-gun, Tokyo, Japan.

raised in the significance of tuberculin testing by the increase of weaker reactors caused by the extensive use of BCG and the repeated use of tuberculin on the same site. Standard deviation in the reading of weaker reaction was proved to be round 4 mm. When the evaluation on the dynamic changes of tuberculin reaction is made, this fact must be considered.

It was also revealed that tuberculin hypersensitivity showed reduction for certain period after polio and measles vaccination. Reduction of tuberculin hypersensitivity seems to relate with the reduction of small lymphocytes in blood.

4) Observation was made on the duration of post-vaccination allergy, and it was revealed that approximately 70% was positive to 5 TU tuberculin 5 years after vaccination. It was also found that the prevalence and incidence of tuberculosis among school children showed marked decline by the extensive use of BCG among small children. Future plan of mass BCG vaccination programme may be changed to give primary vaccination in early infancy (soon after birth or at 3 months after birth), and to give booster vaccination for non-reactors at certain age, for instance at primary school entrance and graduation, and at 20 years of age.

Booster vaccination must be conducted for non-reactors among contacts at any time.

5) The incidence of tuberculosis was reduced by the use of chemoprophylaxis for newly convertors. We have to consider, however, the fact that the disease shows clinical manifestation in many cases when the tuberculin reaction converts to positive. Trouble for repeating tuberculin testing and regularity of drug administration are also the problems in chemoprophylaxis. Taking these facts into consideration, the main tool for the prevention of tuberculosis is BCG vaccination, and chemoprophylaxis may be applied in addition to BCG for tuberculosis contacts and for strongly positive convertors in the well-controlled mass.

Through the discussion, the future plan of tuberculosis control was clearly established. In conducting these measures, however, each technique used in the control such as mass chest X-ray, tuberculin testing, BCG vaccination and chemoprophylaxis must be done on a higher level. Evaluation of these measures on the national as well as on the local levels is strongly demanded. More rapid fall of tuberculosis prevalence in the future is expected through the intensive conduct of the above mentioned programme.

ま と め

座長 島 尾 忠 男

Summary

Chairman : Tadao SHIMAO

結核まん延の様相の変化に対応して、今後とるべき結核予防方策について、① high risk group はなにか、② 検診間隔はいかに考えたらいいか、③ ツ反応の意義と問題点、④ BCG 接種の今後のあり方、⑤ 化学予防の問題点、の5つの主題をとり上げて討議を行なった。

① 今後予防方策の重点をおくべき対象としては、発病の危険の多い階層、すなわち high risk group をあげることができる。現在の日本における high risk group はなにかについて、5人の演者によつて成績が紹介され

たが、これを要約すると表1のようになる。

② 検診間隔別に発病時病状とその後の経過をみると、間隔が1年をこえた場合発病時病状が重くなり、治療成績も悪くなる。現状で少なくとも年に1回の検診は必要であり、間隔をこれ以上あげてよいという医学的理由はない。検診の質に対する配慮も必要である。熟練した医師でもある程度の見落としは避けられない。すぐれたフィルムほど発病者を病状の軽いうちに発見しているので、良質の写真をとり、これを慎重に読影せねばならない。

Table 1. High Risk Group at Present in Japan

		Infant	School children	High school & university students	~29 yrs	30~44 yrs	45~59 yrs	60 yrs~
Sex	Total	×	×			+	++	++
	Male	×	×			++	++	++
	Female	×	×			+	+	+
Intensity of primary infection	Healed findings	++	++	++	++			
	Strongly positive conversion	++	++	++	++	+	+	
	BCG(-), TR(++), BCG(-), TR(++)	++	++	++	+			
	BCG(+), TR(++)	+	+	+	+			
Host-side factor	Employees & workers	/	/	+	+	+	+	?
	Pneumoconiosis	/	/	/	++	++	++	++
	Diabetics	/	/	?	?	+	++	++
	Fatty persons	?	?	?	×	×	×	×
Environmental factors	Bad environmental conditions	++	++	?	?	?	?	?
	Abnormal circumstances	?	?	?	++	++	++	?

Notes: ++: Group with markedly high risk +: Group with high risk ×: Group with low risk ?: Sufficient data were not obtainable /: None falls under this column no marks: Group with usual risk

③ ツ反応は信頼度の高い検査であり、精製ツの採用によって反応はさらに明確に現われることが期待される。反応の意義を混乱させているのは、BCGの普及、促進現象等による10mm前後の反応の増加である。この程度の反応では2σをとると8mm前後の誤差があるので、この点を考慮して判定成績を意味づけねばならない。生ワクチンの投与はツ・アレルギーにある程度の影響を与える。ツ反応の陰転と小リンパ球の減少には相関がみられるようである。

④ BCG接種後のツ・アレルギーの持続は長くなり、数年後でも70%をこしている。経皮接種でも3年後で60%をこしている。また乳児期におけるBCGの普及によって、学童期の発病は激減してきている。BCGの集団接種は出生後できるだけ早く（新生児期または3カ月児）初接種を行ない、その後小学校入学時、卒業時、就職時等の一定年齢で再接種をする方式に切り換える方向で検討してゆく必要がある。患者家族に対しては随時再

接種を行なうべきである。

⑤ 化学予防の使用によつて、自然陽転者からの発病を減らすことができる。しかし陽転と同時に発病するものがかなりあり、化学予防の実施には手間を要することを考えると、予防の主体はBCG接種におき、化学予防はキメの細かい管理を行ないうる集団で、発病率の高いと予想される対象に重点的に行なうべきであると考えられる。

上述したように今回のシンポジウムによつて今後の予防方策のあり方について、かなり明確な方針を打ち出すことができた。しかしこれを実施に移す前提条件としては、検診、BCG、化学予防等一つの手法が高い水準で行なわれねばならない。予防方策の精度についての評価が行なわれ、精度の高い対策が実施されるよう、国、県、保健所、市町村のおおのの段階で努力がなされることを強く要望したい。その積み重ねのうえに、結核減少の傾向に拍車がかげられることを期待するものである。

1. 職域結核管理の立場から

富士銀行健康管理センター 近 江 明

1. Studies on Tuberculosis Control Measures among Employees of Enterprises

Akira OHMI

近年、職域における健康管理は結核管理の一応の成果を基礎として、成人病と呼ばれる各種の内因性疾患対策をはじめ、その管理目標の多目標化がなされつつある。

このような職域健康管理の趨勢の中にあつて、結核予防方策の重点化、効率化を考える場合、重要な研究目標として、(1)どのような成人集団に結核の新発生が多い

か、またどのような職場環境、社会環境に多いか、(2) 結核健康診断の効率を高めるためには、その質と量(検診間隔)はいかにあるべきか、の2つが重要な位置を占めている。

労働結核研究協議会の協同研究班は前記2つの研究主題を目標に、職域における結核管理の再検討を試みた。

I. ハイリスクグループの問題

(1) ツベルクリン反応強度と発病

初感染時のツ反応強度と初感染発病率とほぼ並行することは、古くは千葉・所沢らの報告があり、近年においては梅沢らが究明している。

初感染より時日を経過した任意時点におけるツ反応強度と、その後の発病との関連について、富士銀行集団と東鉄集団について調査研究を試みた。

富士銀行集団については、昭和26年と、昭和32年に、全職員にツ反応検査を実施している。26年観察開始群については、42年までの17年間の半年当りの発病率を、32年観察開始群については、11年間の半年当りの発病率を、観察開始時のツ反応強度別に比較検討した。

表1に示すごとく、26年観察開始群では、男女とも既往BCG接種の有無にかかわらず、(卍)より(卍)のほうが

発病率は高く、ツ反応強度が結核発病の「ハイリスク」の指標としての有意性を示している。

32年観察開始群では、全般に発病率の低下がみられ、ツ反応強度と発病率との相関は明らかでない。

東鉄集団についての、28年より42年までの13年間にわたる年間発病率は、既往BCGあり群の中の、観察開始時30歳未満の若年層においてのみ、ツ反応強度と発病率の並行関係がみられ、30歳以上および既往BCGなし群では、ツ反応強度と発病との間に関連性が見出されない。

東鉄集団の13年間の発病率を、観察の開始時から3年ごとに区切ってみると、ことに若年層において、観察の当初の(0~3年)、(3~6年)においてのみ、ツ反応強度と発病の関連がみられるのみである。

ツ反応強度と発病率との間には、ある程度の相関がみられるが、この関連性は初感染から時間的距離が短いと考えられる若年齢層ほど明瞭であり、長い年月が経過した年齢層では明らかでない傾向がうかがわれる。

(2) レントゲン治癒所見の有無と発病

肺および肺門淋巴節の石灰化巣、胸膜癒着などの結核治癒所見の有無と、発病率について、13年間の観察群について究明した。

13年間の年間平均発病率は、OB群よりも治癒所見のある群のほうが高い。

しかし3年間ごとの観察開始時点からの経過年数別の分析では、その差は前年の6年以内、ことに3年以内で著明であり、後年の6年間には、OB群と治癒所見群の間に発病率の差は認められない。

治癒所見の内容別に検討すると、40歳以上では、石灰化群より胸膜炎経過群の発病率が高い。

治癒所見群を観察当初のツ反応強度別に、13年間の発病率を検討したが、差異はみられない。

治癒所見の中でも胸膜癒着の存在は、ハイリスクの指標として適切である。しかしツ反応強度と発病との関係と同じように、時間的因子を入れて、ダイナミックに評価することが大切である。

すなわち6~7年も変化のない治癒所見者は、もはや異常なし群と同じ安定度の地位におくべきであろう。

(3) 塵肺所見の有無と発病

塵肺職場における塵肺と結核発病との関連を、胸部レントゲン所見における塵肺所見の有無(有の場合において、はじめはなしか、はじめからありかという層別けで)別に分析した。

観察中塵肺所見のみられない者は、最も結核発病が少なく、観察のはじめから、また途中から塵肺所見の発現のあつた者は発病率が高く、ハイリスクを示している。

(4) 社会環境と発病

東京都警視庁傘下の警察官の過去13年間における結

Table 1. Relation between Incidence of Pulmonary Tuberculosis and Intensity of Tuberculin Reaction among Employees of Fuji Bank

Previous BCG →			Male		Female	
			-	+	-	+
Follow-up during 1951~1967	T. R. in 1951	卍	0.18 1,648	0.26 1,912	0.27 361	0.92 1,198
		卍	0.49 1,236	0.73 682	0.52 777	1.00 1,290
	T. R. in 1957	卍	0.133 1,502	0.09 6,538	0.25 788	0.05 4,257
		卍	0 549	0 1,951	0.19 519	0.17 2,328

Notes: Figures in upper denote incidence rate per 100 person half years, and those in lower half indicate observed person half years.

Table 2. Incidence of Pulmonary Tuberculosis among Cases with Normal X-ray and Healed Findings

X-ray findings	Observation period(yrs.)			
	0~3	4~6	7~9	10~12
Healed	1.73 4,555	0.52 4,032	0.20 3,569	0.10 3,154
Normal	0.77 59,267	0.39 55,919	0.14 52,076	0.17 47,429

Notes: Figures in upper half indicate incidence rate per 100 person years, and those in lower half indicate observed person years.

核発病率は、昭和30年(0.48%)から漸時順調な低下を示しているが、昭和35年には、前年の0.21%から0.35%と逆行的増加を示している。

35年は「安保騒動」の年であり、警察官の精神的緊張と肉体的労働のきわめて過重な時期であった。

警察官の動員状況では、東京オリンピックの時期も、安保騒動の場合とほぼ同様であるが、結核発病率には影響がみられない。

大胆な推論が許されるならば、その集団をとりまく社会環境が極度の精神的身体的ストレスを内包する場合、その集団の結核発病の動向は、ハイリスクの傾向をもつといえよう。

(5) 体格と発病

東鉄集団を対象に、体格と発病との関連を、標準体重以下群と肥満群およびその程度について、1年間の発病との関係を究明した。

いずれの年齢階層においても肥満群は、標準体重以下の群よりも明らかに発病率が低く、ロウリスクである。

II. 結核健康診断の質と量について

結核健康診断の効率を高めるために、検診の質と量はいかにあるべきかという問題について、検討を試みた。

検診の質については、主として間接撮影フィルムの読影診断の問題を中心に究明し、検診の量については、検診の間隔について検討した。

(1) 結核健康診断の間隔について

結核健康診断の間隔は現行法では、全国民が1年に1回の受診を義務づけられており、結核発病のハイリスクグループは、それ以上の短い間隔での受診が望ましいとされている。

検診間隔がどのくらいが適当であるかは、(1)間隔の変化による発病率への影響、(2)検診間隔別の病状の差異の両面からの検討が必要である。

第1の点については、いままで半年ごとの検診を実施してきた大企業の2,3が、近年、検診間隔を1年に延ばしており、間隔延長に基づく発病率の推移を検討したが、増加傾向はみられない。

第2の点については、検診間隔と発病時の病状、発病1年後の病状の推移との関連を、約1,000例の症例につき検討した。

(i) 検診間隔と発見時の病状

大企業の管理集団における分析では、検診間隔が6カ月と1年の間に、空洞型の占める率、空洞の疑いのある者(学会 III A 型)の占める率、病巣の両側性の占める割合の、いずれの指標でも著しい差異を認めない。

大企業の場合、1年をこえる間隔では、病状の進展をもたらし、前記諸指標がすべて進展を示している。

学会 III 型の中でも、学研分類 C 型の占める率が上昇し、受療面での不利が予想される。

中小企業集団と大企業との比較は、その社会的背景や検診精度の差異があつて、一概には論じにくいだが、3年をこえた間隔で受診した者の発病時の病状は、明らかに進展しており、空洞型の占める割合、両側性の占める割合、C型の占める率などが、3年以内の検診間隔群に比し圧倒的に高率を示している。

表3に示したように、成人集団においては、検診間隔が1年をこえると、発見時病状の進展が著しく、被管理者、企業の両者にとつて、不利な影響がみられる。

(ii) 検診間隔と発見後の病状の推移

検診間隔を (a) 6カ月以内、(b) 1年以内、(c) 1

Table 3. Type of Disease among Newly Diagnosed Cases Observed by Size of Enterprise and Interval of Mass Chest Survey

	Interval	I		II		III A		III B		Total		IV	PI	H
			%		%		%		%		%			
Bigger enterprise	~6 m.	0		29	13.2	30	13.8	158	73.0	217	100	17	28	4
	6 m~1 y.	0		40	16.2	32	13.0	175	70.8	247	100	11	11	1
	1 y~	0		4	18.3	5	22.7	13	59.0	22	100	0	0	0
	Total	0		73	15.0	67	13.8	346	71.2	486	100	28	39	5
Smaller enterprise	~1 y.	0		12	34.3	6	17.2	17	48.5	35	100	1	0	0
	1~3 yrs.	0		7	17.9	6	15.4	26	66.7	39	100	0	0	0
	3 yrs.~	0		8	50.0	2	12.5	6	37.5	16	100	0	0	0
	Total	0		27	30.0	14	15.6	49	54.4	90	100	1	0	0
Cases hospitalized	~1 y.	7	6.4	69	63.3	9	8.3	24	22.0	109	100	0	2	0
	1~3 yrs.	2	8.3	19	79.2	0	—	3	12.5	24	100	0	0	0
	3 yrs.~	2	9.5	16	76.2	0	—	3	14.3	21	100	0	1	0
	Total	11	7.2	104	67.6	9	5.8	30	19.4	154	100	0	3	0

年をこえるものに分け、主として化学療法による受療に基づく、① 1年後の空洞の消失率、② 学会Ⅲ型のⅣ型への移行率、③ 学研B型以上のCC化率などについて検討した。

これら諸点からの評価では、半年ごとが最も成績が良く、1年以内がそれに次ぎ、1年をこえたものは、ことに空洞消失率が悪く、学会、学研の治癒型への移行は、ほとんど認められない。

前項の成績とともに現在では、最低1年1回の結核検診の確保が必要であるといえよう。

おわりに

近年、職域における結核は、その管理の充実と相まつて、減少の傾向を示していることは、誠に喜ばしいことである。

だが著しい結核減少を来たした大企業集団において、現在でも年間の疾病休務統計をみると、結核が依然とし

て、大きな部分を占めている。

見かけ上の結核減少傾向も近年鈍化し、安易に結核を軽視し、対策の手を緩めることは危険なことである。

われわれは科学的に情況をとらえ、予防、治療、管理の技術精度を高め、じつくりと腰をすえて、職域における結核根絶の道を歩むことの必要性を痛感する。

また職域の結核施策と地域における施策の一貫性も、今日重要な課題であり、中小企業において、ことにその感が深い。

協同研究者(労働結核研究協議会):千葉保之・大武八郎・福田安平・高原義・栗原忠雄・前田裕(国鉄)島尾忠男(結核予防会結研)梅沢勉・中島安三(警視庁)松谷哲男・中村利彦(電電公社)庄中健吉(日本鋼管)小山幸男・菊池誠作・田尻貞雄(労働医学)鈴木誠一(東宝)有賀光(川鉄)中村健一・萩谷淑子・浦江颯子(富士銀行)

2. 結核検診上の2,3の問題点

名大予防医学 青木国雄

2. Certain Problems on Tuberculosis Mass Survey with Special Reference to Tuberculin Testing

Kunio AOKI

1. いわゆる High Risk Group についての考察

(1) 性・年齢別結核新発見率

従業員15,260名の企業体で1966年1カ年の結核新発見率は0.3%で男が女より高いが、年齢別では男は25~29歳0.5%、40~44歳0.50%、55歳以上1.1%と3つの峰があり、女は20~24歳0.38%で、20~24歳では女は男より高かった。

(2) 糖尿病患者と肺結核の合併

結核専門医により10年以上管理されている2つの公務員集団(ともに約1.5万人、結核有病率もほぼ同じ)で、糖尿病の集検を実施し、新たに糖尿病と診断された

者と、過去にすでに糖尿病が発見され治療観察中の者について、肺結核治療歴ありの頻度をretrospectiveに調査した。結果は表1のごとく40歳以上を5歳間隔に区分し、糖尿病中の肺結核治療歴ありの数(O)と、全対象のそれと同率と考えた場合の期待値(E)の比(O/E)をとりrelative riskをみると、新発見糖尿病では年齢とともにO/Eが高くなる。すでに糖尿病として治療中の集団では、40~44歳はO/Eが1.5をこすが、45歳以上は逆に小さい。糖尿病の発病時期が不明なためretrospective調査によつたが、少数例のため有意ではなかつた。しかし糖尿病患者も一応high risk groupとして観察する必要がある。

Table 1. Observed and Expected Ratio of Previously Treated Pulmonary Tuberculosis Cases among Diabetes Patients by Age Group (Retrospective study for 11 years)

Age (yrs.)	No. Examined	Diabetes newly diagnosed by mass health examination				Diabetes already diagnosed and treated			
		No.	No. of previously treated pulmonary tuberculosis cases		O/E	No.	No. of previously treated pulmonary tuberculosis cases		O/E
			Observed (O)	Expected (E)			Observed (O)	Expected (E)	
40~44	2,824	43	3	3.67	0.82	53	7	4.4	1.59
45~49	1,559	31	4	3.02	1.32	26	2	2.6	0.77
50~55	1,949	38	6	3.8	1.58	53	1	4.8	0.21

Table 2. Number of Newly Diagnosed Cases of Active Pulmonary Tuberculosis Requiring Hospitalization before and after Ise-Bay Typhoon among Public Officials of Nagoya City

Observation period Age	Healthy persons			Persons with healed tuberculous lesion on chest X-ray			Pulmonary tuberculosis cases under treatment		
	Cases newly diagnosed			Cases newly diagnosed			cases deteriorated		
	①	②	③	①	②	③	①	②	③
~ 29	6	5	7	1	3	1	2	0	2
30 ~ 39	3	6	0	1	4	0	0	2	2
40 ~ 49	2	3	2	0	1	2	0	2	0
50 ~	1	2	1	0	2	1	2	0	3
Total (%)	12 (0.13)	16 (0.17)	10 (0.11)	2 (0.17)	10 (0.84)	4 (0.34)	4 (1.22)	4 (1.22)	7 (2.13)

Notes: ① For 6 months before Ise Typhoon, ② For 6 months immediately after Ise Typhoon, ③ For the 7th to 12th month after Ise Typhoon.

Table 3. Course of Overlooked Abnormal Shadows on 6x6 cm Radiofluorophotogram (Rp)

Overlooked abnormal shadows (Type of disease) B ₁ or CB ₁	Course of abnormal shadows	Time interval from appearance of abnormal shadows to detection of disease		
		6 months ~	12 months ~	18 months ~
One small abnormal shadow: smaller than a half of rib width on 6x6 Rp	Improved	1 (4.2)	0	0
	No changes	15(62.5)	7(63.6)	4
	Deteriorated	8(33.3)	4(36.4)	0
	Total	24 (100)	11 (100)	4 (100)
Small abnormal shadows, 2 or 3 in number or conglomerated shadows: larger than a rib width on 6x6 Rp	Improved	0	2(16.7)	1(11.1)
	No changes	15(71.5)	8(66.6)	4(44.5)
	Deteriorated	6(28.5)	2(16.7)	4(44.5)
	Total	21 (100)	12 (100)	9 (100)

6カ月, ② 後6カ月, ③ 後7~12カ月の3期に分けて観察すると表2のごとく, 健康者からの要療養発生率は大差ないが, 結核治癒所見者からの発生率が②は0.84%と①の5倍, ③の2.5倍と高く, 一方治療中の患者の悪化には差はなかつた。これを年齢別にみると20歳代は差なく, 最も活躍した30歳代は3倍を示し, 40歳以上にも若干の影響があつた。異常事態の影響はそれほど長くはないようである。

2. 検診間隔についての一考察

たまたま2年間結核検診に不慣れな医師が管理していた2つの企業体で, 肺結核新発生病影の見落しを廻行して検討し, 病影の形状, 経過について観察, 検診間隔決定の一資料としようとした。

見落とされた病影はすべてB₁またはCB₁の小病影で, 6カ月後の検診で発見された54例中軽快3.7, 不変68.5, 悪化27.8% (うち有空洞7.4%), 2回見落とされた28例ではそれぞれ7.1, 60.7, 32.1%, 3回見落とされた14例では7.1, 78.6, 14.3%となる。これを肋骨幅の1/2以下の小病影1コの場合と, 2~3コあるいは集簇して肋骨幅より大きい病影とに分けると, 表3のごとく, 1小病影は悪化率が30~35%と高い。比較的大きい病影は1年間は悪化率は低い, 1.5カ年以上経過すると悪化率はかなり高くなる。検診間隔は集団の結核の新発生率, 有病率を考慮せねばならないが, 検診精度も大きな要因と考えられる。

3. ツ反応の問題点と対策

ツ反応は非常に信頼度の高い検査法として知られているが, 結核実態調査や集検結果で, 異常に高い陽転率が

(3) 珪肺患者集団

S地区の中小企業(大部分30人以下の小企業)従業員8,563名についての名市大奥谷教授, 島助教授の調査結果を紹介すると, 珪肺有所見率は15.4%で, この集団をPR₀~PR₃の4群に分け4カ年観察(治療なし)すると, 年間肺結核発見率はPR₀0.09%, PR₁0.13%, PR₂0.74%, PR₃1.28%でPR₂上に有意に高い。年齢別では40歳以上に高く, 50歳以上のPR₂₋₃をとるとPR₀の10倍以上となる。化療なしで放置された珪肺結核の病型別の悪化率をみると, BB, CB型で20%以上で, 同年代の労働結核協議会の肺結核単独群に比べ2倍近く高い。CC型では差はない。

(4) 異常な環境下での結核発生状況

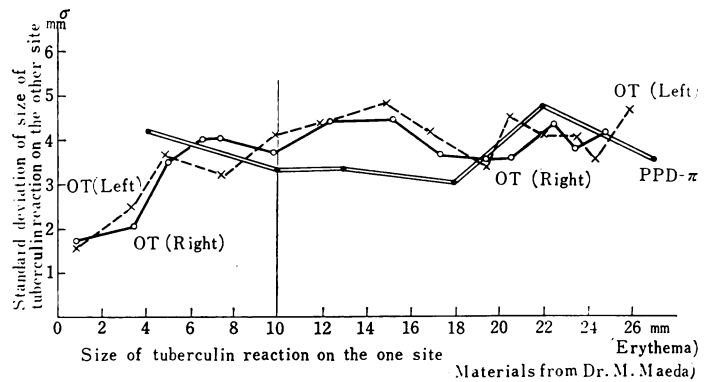
昭和34年9月, N市を襲った伊勢湾台風により, 市の1/2が冠水し, 3千余の死者を算し, 爾後3カ月にわたり救助, 厚生, 復興等の緊急対策に異常な努力が払われた。中でもN市職員は日常の数倍もの労務にたずさわり心身の疲労がはなはだしかつた。この台風後に職員の間結核の新要療養者が異常に増加したので, ① 台風前

示され、またうすい反応、朽葉色反応、促進・遅発反応等の出現も目立つて、ツ反応の判定や解釈に混乱を来たしてきている。この原因について乳幼児、小中学生、高校生、成人、結核患者等の集団について検討すると、ツ弱反応者(5~15 mm)に変動する者が多く、また朽葉色やうすい色調の比率が高く、促進反応も高率であり、さらに測定誤差も10~15 mmの弱い反応でいちばん大きい。弱陽性者はBCG接種集団に多く、また近年はBCG歴なしの陽性者中の弱陽性者の占める率が増加しており、若年層と高年層にとくに高い。ツ反応をくり返し実施すると、ツ・アレルギーをもつ個体では反応は増強する傾向があり、ツ・アレルギーのない個体では全く影響がなかった。一方結核患者や、未感染の乳児ではツ反応は明瞭な発現を示し、95%以上の信頼性をもつことを確かめえた。したがって現今のツ反応の混乱は、弱反応者の周辺で、いろいろな問題がおき、ツ反応の解釈を難しくしていることが分かった。以上の事実からツ反応をより明確なものとし信頼性を低めないためには、①ツ液の選定、②確実な手技、③測定差を最少にする、④ツ反応の変動の幅を知る、⑤宿主のツ反応性に影響を与える外的要因に注意を払う等のことが必要である。

ツ液については、非特異反応が少なく、力価が高く安定し、反応が明瞭である精製ツの使用が必要である。高濃度ツの使用は交叉反応の鑑別が困難であり、低濃度ツは変動が大きすぎる欠陥がある。実施手技については、現行の皮内法に代わるすぐれた方法がないので、皮内法の注意深い確実な実施が望まれる。測定は集検時とはとくに慎重に行ない、測定者間の不一致率を最少にするように訓練が必要である。ツ反応の変動の幅を知る必要があるので、(i)同一人に同時に2カ所(非常用部位)ツ反応を実施し、反応を比較した(国立多摩研、前田博士の資料を解析)。これは手技差、測定差、部位差を同時に観察したことになる。

両者の発赤の平均値、分布は非常に相似し、 $r=+0.88$ と高いが、一側の反応の一定値の者の、他側の反応の大きさはかなり異なる。そこで一側の発赤値ごとに他側の発赤値の分布状況を σ でみると、図1のごとく4 mm未満では σ は小さいが、6 mm以上ではOTの σ 4~5 mm、精製ツ π では3~4 mmとなる。すなわちツ反応の部位差は、手技、測定差を含め、 $\pm 2\sigma$ をとると ± 8 mmの差は有意といえないことが分かる。次に(ii)同一人に2~8週間隔で2回ツ反応を実施、その反応を比較した。

Fig. 1. Standard Deviation of Size of Tuberculin Reaction on the Other Site to a Certain Size of Tuberculin Reaction on the One Site among Healthy Persons (Simultaneous intradermal tuberculin tests at 2 new sites of the flexor surface of the forearms)



これは手技差、測定差、部位差および個体の日差を併せ観察することになる。2回の反応の $r=+0.65$ で前者より小さく、初回テストの一定値に対する再テストのばらつきも大となり、平均値、分布も若干異なってくる。この関係を回帰直線で表わすと、初回テストで弱い反応はより強く、強い反応は弱く出る傾向がある。5 mm以下の陰性者では変動の幅は非常に小さい。ツ反応には変動があり、10 mm前後の反応には影響が強く、また弱い10 mm前後の反応は、明瞭な15 mm以上の反応とは同じ陽性でも若干臨床疫学的な意義が異なるものと考えられる。

弱陽転者の意義を明らかにしようとして、1管理集団で11年間に陽転として管理された578例中、陽転後2~3年間、6カ月ごとにツ反応を実施観察した436例を、陽転後のツ反応経過のパターンから4群に分けた。すなわちBCGが3年以上なく、①強陽転(硬結30 mm以上)したもの、②20 mm以下の弱陽転者で、弱陽性が続いた者、③BCGが陽転前3年以内にあり①と同程度の強陽転した者、④BCG陽性を否定できない者に分けると①14%、②33.9%、③13.1%、④39%で、断面での陽転の判定が容易でないことを物語っている。またその後の追跡調査での結核発生率は①、②、③、④の順に低くなり、弱陽性者が必ずしもlow riskではなく、その解釈も単純にはいかない。

宿主側に影響を与える外的因子の中で最近問題となった2~3についてふれると、

第1は非定型抗酸菌感染の問題であり、患者発見率が年々急増し、集団での菌検出率も0.5~1%みられ、本菌の感染者はOTで弱陽性を呈するので、今後鑑別診断上重要である。

第2はポリオ生ワクチン服用後のツ反応減弱である。結核患者家族の乳児でBCG歴なくツ反応10 mm以上の

例に実施したが、1カ月後8例中6例、2カ月後2例全部が減弱または消失し、3カ月後はだいたい元に復している。麻疹生ワクチンについても、自然陽転した乳幼児にKL注射後1~2週の間はツ反応を実施すると、著明に減弱する群と、よりうすく弱く大きくなる反応の変化を認めた。ウイルス生ワクチンの投与はツ反応実施上看過しえない所見である。

以上ツ反応は簡便な信頼性の高い検査法であり、今後結核の減少とともにますます重要となる検査法であるが、かつして単純な安定した生体反応ではないことを知るとともに、ツ反応状況は経過を追って観察し、個人ごとにそのツ・アレルギー状態を推測する必要がある。

現在ツ反応の本態をチェックする適当な生物学的手段が乏しいが、名大小野らは白血球数2,000以下でツ反応(-)の患者の血液像で、小リンパ球の絶対数の減少が特徴的であることを指摘し、ツ反応(-)の1要因ではないかと推察している。われわれも老人結核、サルコイドーシスでツ反応(-)の者について、リンパ球の動向を調査したが、少数のため結論は得ていない。しかしこのよう

な他次元からの考察は、いままでツ反応が現象論に傾きすぎた欠点を補ってくれるかもしれない。

4. 乳幼児の陽転の判定

BCG接種後の乳幼児で、ツ反応が20mmをこすというだけの理由で治療されている者が少なくないが、こうした乳幼児を3~5年観察し、BCG後の20~25mmのツ反応は、BCGによるものであることを確認しえた。なお乳幼児で発病する者のツ反応は、ほとんど二重発赤を伴い、強い反応をみる者が多い。

5. BCGの局所反応

ツ反応弱陽性者は判定が困難であるが、われわれは誤まつて10~13mmの者に接種されたBCGの局所反応を9mm以下の者と比較したが、8~9mmの反応者とは差がなく、0~4mmの者よりは若干強かつた。問題となる潰瘍、その他副作用は認めず、判定に迷うような弱陽性者は、疑陽性者とはほぼ同じ性格のものと考えてよい。

3. 学童および一般住民の管理成績から

結核予防会結核研究所 高井 鏖 二

3. Study on Tuberculosis Control Measures among School Children and General Inhabitants

Ryoji TAKAI

住検における未受診者の意義とその対策

昭和31年に住検を開始した東京近郊小平市では、昭和34年には、人口約40,000人に対し、受診総数9,046人、発見患者61人(0.67%)であつたが、5年後の昭和39年には、人口は約2倍となつたが受診総数13,452人、発見患者22人(0.16%)にとどまつた。人口の増加ほどには受診数の増加がみられず、かつ患者発見率は著明に低下していた。

この原因として受診者の固定化と未受診者の増加が想定され、その対策として、4分割重点地区方式をとり、重点地区では、個人通知を送り、さらに検診もれとなつた者に対しては洩れ者検診を行なうこととなり、昭和40年より実施された。重点地区以外の3地区では、個人通知を出さず、会場数を減らし、洩れ者検診もしなかつた。この方式を導入してからも受診数は増加し、患者発見率は著明に上昇し、4分割重点地区方式の効果が明らかとなつた。

昭和31年以来の住検による発見患者483人中415人(86.0%)は初発見患者、47人(9.7%)は不活動性結

核の悪化、21人(4.4%)は治癒所見~異常なしからの新発生であつた。初発見例は、年度による動揺が大で、重点地区方式の実施により患者発見率が高くなつたのは、初発見例が多かつたためであつた。

昭和40年度の重点地区検診で発見された15歳以上の活動性結核19例中8例は洩れ者検診によるものであつ

Table 1. The Ratio of Active Tbc. among Adults of the Various Response Status to the Casefinding Programme in Kodaira City, 1965

	Number exam.	Number and ratio of detected active cases	
Total	3,511	19	0.54%
Examined by the first routine exam.	2,633	11	0.41
Examined by the additional exam.*	878	8	0.91
Examined in the previous year	359	1	0.27
Previously not examined	519	7	1.34

* Additional examination was conducted for persons failed to be examined by the first routine examination.

た。洩れ者検診を受けた者のうち 60% は住検を受けたことのないものであり、表 1 に示したごとく、その中に 7 例 (1.34%) の初発見患者がみられた。

以上の成績から一般住民のように組織化のおくれている集団では比較的長期にわたって検診が実施されていても、受診者の固定化、新たな転入者がある等のために、累質受診率は必ずしも高率であるとはかぎらず、かつ未受診者中には潜在患者が多いので、100% 検診、地区分割方式、未受診者の特別検診等により潜在患者の発見に努めるべきであると結論しうる。

小中学生における発病状況とその対策

昭和 32 年以降検診を行なっている小平市の小中学校 (昭和 42 年の X 線検査受診数: 13,039 名) において、検診開始以来発見された活動性肺結核は 43 例で、そのうち 21 例は新入学もしくは転入学時の初回検診による発見例であり、22 例は在学中の新発生病 (不活動性からの悪化を含む) であつた。

在学中の新発生病例中 9 例は陽転発病、13 例は既陽性発病であつた。

陽転発病は 4 名の BCG 未接種の自然陽転例から 1 例、108 名の BCG 既接種の陽転例から 8 例 (7.4%) であつた。自然陽転としたのはツ反応の強さが、2 段階以上増強するのを原則としたが、(-)→(+) の変化は陽転とせず、また少数例ながら (+)→(++)、(++)→(+++) にはあつたが、その差がきわめて著明なため陽転としたものがあつた。

既陽性発病例は不活動性からの悪化 4 例、治癒所見からの新発病 5 例、無所見既陽性からの新発病 4 例であり、このうち BCG 既接種者は不活動性からの 1 名と無所見からの 1 名のみであり、無所見の 1 名は小学校 2 年生で発病した H 型で、陽転時期を確認しえなかつたが陽転発病例であろうと推定される。

以上により次のように結論される。小中学校では新入学、ならびに転入学時の X 線検査を確実にして、初回検診時に活動性肺結核の発見に努め、かつ同時に発見される不活動性、治癒等の有所見例ならびに BCG 未接種陽性例については X 線検査を少なくとも年 1 回は継続して行ない、BCG が接種されていても結核未感染と思われるものには年 1 回はツ反応を行ない、自然陽転の発見に努めるべきである。また BCG 未接種、未感染で入学した者には陽転発病をさけるため速やかに BCG 接種を行なうべきである。

ツ反応に関する知見の一部

入院患者で 2,000×OT, WHO から供与された Tween 80 加 RT-23 (0.01 r) の比較を行ない、全体として RT-23 のほうにやや強い反応がみられ、とくに硬結を触れやすい反応であることを知つた。なお少数ではある

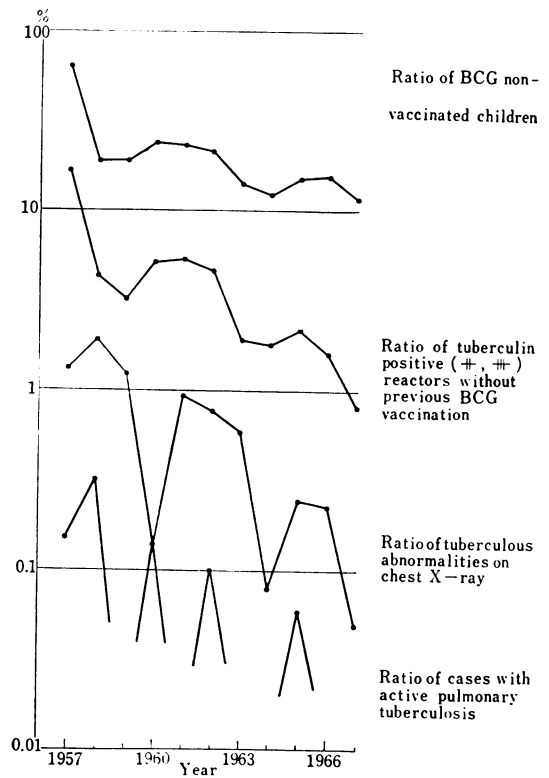
が、喀痰中結核菌陽性でありながら 2,000×OT に対して発赤 10 mm 未満の反応を示したものがあつた。

一般住民による 2,000×OT と子研 PPD-S 0.05 r の比較では、PPD-S がやや強く、その差は発赤ではそれほどでないが硬結、二重発赤では明らかである。また BCG 接種を受けた者の多い若年層では差がなく、BCG 未接種の多い高年層で差が著明であつた。とくに強陽性となる者では水泡をつくる率が高いようであつた。

BCG 接種に関する考察

BCG は昭和 42 年度より経皮法で接種されることになり、副作用の点では格段に改善されたが、皮内法に比し、接種菌量が不均一となるおそれを生じた。そこで有効接種菌量がきわめて少量となつた場合免疫がどのようになるかを解明するために、現行経皮用凍結乾燥ワクチン K-1019-G を用いてモルモットによる免疫実験を行なつた。5×10⁻⁷ mg (平均生菌数 16) の BCG 皮内接

Fig. 1. The Relation between the Ratio of Non-vaccinated Children, the Ratio of Positive (+, ++, +++) Tuberculin Reactors without Previous BCG Vaccination the Ratio of Tuberculous Abnormalities on Chest X-ray and the Ratio of Active Pulmonary Tuberculosis among Primary School Children of the 1st Year Grade



種動物では、対照無処置動物と同様ツ・アレルギーの発現はなく、皮下注射により攻撃試験における防御効果もみられなかつた。 5×10^{-6} mg の BCG 接種動物では、6週以後には著明なツ・アレルギーの上昇と、攻撃試験における防御効果が認められ、30週後にも明らかであつた。ツ・アレルギー、防御効果の程度は 5×10^{-2} mg の BCG を接種した動物との間に差がなかつた。すなわち $5 \times 10^{-2} \sim 5 \times 10^{-6}$ mg の BCG を使用するさいには、生ずるツ・アレルギー、免疫効果は接種菌量に左右されず、少なくともツ反応が陽転する程度に BCG が接種されれば、有効な免疫が得られるものようであつた。

人体に接種された BCG によるアレルギーの持続についてはすでに多くの報告があり、比較的長期に維持されるものと考えられている。本報告では蔗糖ワクチンならびにグルタマイトワクチンで皮内接種された学童のツ・アレルギーを5.5年にわたつて追求した結果、ツ・アレルギー消失の基準として、ツ反応が1度でも(-)または(±)となつたときを消失とするきつい判定と、いつたん(-)、(±)となつても次の検査で(+)を示したときにはアレルギー持続とするゆるい判定とを設けて観察すると、いずれのワクチンでも、ゆるい判定では5.5年後に75%が陽性に止まつており、きつい判定でもほぼ60%の陽性率を維持していた。

また生後3カ月で経皮接種を受けたもののツ・アレルギーについて観察した結果、3年後にもほぼ65%以上の陽性率を示し、かなり良好な成績であるといえよう。

昭和32年より42年の間に小平市の小学校に入学した1年生の総数に対する BCG 接種率、BCG 未接種でツ反応(+)、(++)のもの率、X線有所見率、活動性肺結核の率を年度別にみると図1のようで、これらはいずれも密接な関連のあることを示していた。小平市では昭和31年より住民検診が行なわれるようになり、未就学児のツ反応、BCG もこの年から盛んになつたのであるから、昭和30年初期の新入学生では BCG 未接種の者が多く、かつ自然感染を受けていると思われる BCG 未接種のツ(+)、(++)の率が高く、X線有所見率、活動性結核の率も

高くなつては、就学前の BCG 接種が90%程度に普及した今日では BCG 未接種のツ(++)、(+)、X線有所見率、活動性結核の率はいずれもきわめて低率となつてはいる。

また在学中の自然陽転発病に対し BCG 接種は抑制効果を示し、在学中の発病例中には BCG 既接種例はきわめてまれであることはすでに述べたとおりであり、最初の BCG 接種は就学前のなるべく早い時期にしておくことが望まれる。

BCG の再接種は、感染の危険の多い対象、ことに患者家族等に対しては随時行なうべきであろうが、それほど危険が高くないと思われる一般集団では、初接種の BCG が集団として有効な免疫を与えた場合、すなわち陽転率が高率であれば、アレルギーの持続が良好であることを考慮して、ただちに画一的な再接種をすることなしに、小学校入学時、小学校または中学校卒業時、高等学校卒業時、就職時等感染環境に変化が起こるときに、数回の時点を選んで、再接種をするような方式をとつても支障ないものと思われる。

乳児のツ反応に関する知見の追加

3歳未満の乳幼児では、胸部X線に病影を認めなくても、ツ反応が自然陽転で、臨床症状のある場合には、公費負担による化学療法が認められている。

結研附療で行なつた BCG 未接種乳児のツ反応検査では、3カ月児で1.14%、9カ月児では3.81%の陽性例が得られた。これらの陽性児のうち再検査を受けた28例中12例は陽性であつたが16例は(±)(-)となつた。初回のツ反応が(++)であるものは2回目にも陽性であつたが、初回(++)(+で10mmに近い弱い反応では、2回目に(±)(-)になるものが多かつた。

このような現象はOTによる非特異反応によるものと考えられるが、ツ反応だけを根拠として診断を行なう場合には、既往の BCG を十分考慮するとともに、初回ツ反応がそれほど強くないときには再度ツ反応を行なつて陽性を確認すべきである。

4. high risk group の検討と化学予防の効果

結核予防会大阪府支部 岡田 静雄

4. Studies on High Risk Group at Present in Japan and on the Effect of Chemoprophylaxis

Shizuo OKADA

1. high risk group の検討

1) 年齢、性について

結核予防会大阪府支部が直接数年間継続管理を行なつている集団につき、昭和42年度の結核新発生を年齢階級別、男女別に示したのが表1である。表にみるごとく

Table 1. Incidence Rate of Pulmonary Tuberculosis by Age and Sex during the Year 1956 to 1957

Age		7~12 Yrs.	13~15	16~19	20~24	25~29	30~34	35~39	40~44	45~49	50~54	55 Yrs.~	Total
Total	No. examined	70,759	26,610	109,190	17,003	15,579	6,927	6,434	5,048	2,676	2,286	1,555	265,067
	No. of new cases	22	21	140	56	29	9	11	7	6	3	3	307
	Incidence rate	0.031	0.079	0.128	0.328	0.186	0.129	0.171	0.138	0.224	0.131	0.193	0.116
Male	No. examined	36,208	13,738	68,083	9,807	10,427	5,503	4,989	3,504	2,050	1,794	1,270	157,373
	No. of new cases	7	5	95	25	15	5	6	6	4	2	3	173
	Incidence rate	0.019	0.037	0.139	0.255	0.144	0.091	0.120	0.171	0.196	0.112	0.236	0.11
Fe-male	No. examined	34,551	12,872	41,107	8,196	5,152	1,424	1,445	1,544	626	492	285	107,694
	No. of new cases	15	16	45	31	14	4	5	1	2	1	0	134
	Incidence rate	0.043	0.124	0.109	0.378	0.272	0.281	0.346	0.065	0.324	0.20	0	0.12

Table 2. Incidence Rate of Pulmonary Tuberculosis among High School Students according to Transition of Tuberculin Reaction Intensity

Transition of T.R. intensity	Previous BCG	None	Vaccinated		Total
			At primary school	At middle school	
No. changes		337(13) [3.9]	775(10) [1.3]	275 (4) [1.4]	1,427(27) [1.9]
Intensified		179 (8) [4.5]	231 (5) [2.2]	76	486(13) [2.7]
Weakened		107	147	58	312
Total		663(21) [3.18]	1,153(15) [1.30]	409 (4) [0.97]	2,225(40) [1.80]

Notes: Figures in () denote no. of new cases and figures in [] denote incidence rate.

Table 3. Results of TB Control among Employees of Smaller Enterprises

Yrs.	1962	1963	1964	1965	1966	1967
Rate of response to mass survey	79.7	78.2	80.1	89.8	95.1	97.1
Incidence rate	1.37	0.41	0.40	0.41	0.27	0.16
Prevalence of active cases	2.5	1.9	1.6	1.4	1.3	0.9

小学校では低率であるが、中学校、高校では発病率は増加し、20~25歳にピークを示しており、必ずしも年齢の増加とともに発病率が増加する傾向はみられない。

また、女子が男子よりも高い発病率を示している。この成績が結核死亡率が高い大阪地方の特殊性によるものか否かは明瞭ではないが、最近数年間、同じ傾向がみられることは注目に価する。またこの表中の女子は勤労女性であることも考慮する必要がある。

2) ツ反応の推移

大阪市内高校生のツ反応の推移と3年間の結核発病の

関連性を表2に示した。この場合、ツ反応はいずれも常用部位に実施されており、通常ならばツ反応は減弱の傾向を示すはずであるが、その中でなお反応が強くなつていく傾向のあるものからの発病率が高く、反応が弱化する傾向のある者からの発病は認められなかった。発病数是不変群に多いが、常用部位にツ反応を継続実施する場合に、反応が強くなつていく場合は high risk と考えられる。

3) 環境と結核発病

環境が結核発病に及ぼす影響を検討する目的で、大阪のスラム街釜ヶ崎に接した、きわめて民度の低い地域のK小学校と環境の良い住宅地のT小学校を比較した。39年から42年の両校の入学時ツ反応陽性率をみるとK校は35~52%ときわめて高く、T校は18~27%であり、しかもT校では入学前のある程度 BCG 接種が行なわれているが、K校ではほとんどが BCG 未接種者であることを考えると、その差はさらに大きくなる。31年以降の発病率をみると、T校では31年の0.22%から漸減して40年以降は発病がないのに対して、K校では31年の0.72%から減少法とはいへ42年になお0.17%という発病率を示している。

このような成績から学童の検診の間引きは環境条件を十分に検討した後、はじめて考慮すべきものであろう。

4) 中小企業は high risk か?

中小企業は一般的に結核の high risk と考えられているが、この当否について検討した。表3に示した大阪メリヤス健保は被保険者約1万名、250社で構成され、従業員50人以下の事業所約180社を含んでいる。昭和37年結核管理を開始した当時は、受診率79%、発病率1.37%、要医療率2.5%であつたが、その後結核管理が進むにつれて結核患者は減少し、昭和42年にはおのおの97%、0.16%、0.9%と、大企業とほとんど差を認めない程度になつた。中小企業そのものが high risk では

なく、検診が十分行なわれえないところに high risk の原因があると考えられる。

2. 化学予防の効果

1) 陽転発病防止の化学予防

a) 小学生

大阪市内の某小学校において、3~4カ月ごとにツ反応を実施し、BCG未接種の自然陽転児童に対して、INH G 1日 200~400 mg を陽転発見直後から連続して3カ月間、学校で服用させ、休日、夏休等には家庭で確実に服用するよう指導した。表4に示したように、服用群から1名(1.4%)、対照群から3名(3.0%)の発病をみた。陽転時のツ反応と6カ月後のツ反応を比較した成績ではINH G服用群のほうがツ反応が減弱する割合がやや多い傾向が認められたが有意差はない。

b) 成人集団

松下電器の従業員における成績を表5に示した。

ツ反応を6カ月ごとに実施して陽転把握を行ない、陽転確認後6カ月間にわたりIHMS 1gを週2回服用させた。IHMS服用群からは2名(0.61%)、対照群からは9名(0.97%)の発病をみたが、有意差はみられない。発病者の病型はいずれも同病型IV型で、空洞の有無、病巣の範囲について服用群と対照群の間に差をみなかった。成人の場合、ツ反応陽転の確認がきわめて難しく、陽転と考えたツ反応が、その後陰転する場合も少なくない事実は、化学予防の効果が必ずしも明瞭でないことと相まって、対象の選択について十分な検討が必要であることを示している。

Table 4. Results of Chemoprophylaxis Newly Converters among Primary School Children

Observation period (yrs.)	1	2	3	4	5	6
INH G group	73 ① (1.4)	57 (1.4)	29 (1.4)	13 (1.4)	7 (1.4)	4 (1.4)
Control	125 ① (0.8)	97 ① (1.8)	75 ① (3.0)	37 (3.0)	19 (3.0)	8 (3.0)

Notes: Figures in ○ indicate no. of new cases and figures in () indicate cumulative incidence rate.

Table 5. Results of Chemoprophylaxis for Newly Converters among Adult Population

Observation period (yrs.)	1	2	3	4	5	6
IHMS group	463 (0)	440 ① (0.23)	368 (0.23)	257 ① (0.61)	155 (0.61)	74 (0.61)
Control	973 ③ (0.31)	912 ④ (0.74)	674 ② (0.97)	483 (0.97)	306 (0.97)	140 (0.97)

Notes: Same to Table 4.

2) 既陽性発病防止の化学予防

結核発病の様相が変化し、陽転直後の発病が減少し、既陽性発病が多くなっているが、既陽性発病防止策としての化学予防の効果について検討した。昭和31年4月大阪市内某府立高校入学生徒にツ反応を実施後、無作為に2群に分け、1群にはIHMS 1回1gを週2回、他群には乳糖で類似薬剤を作製して6カ月間継続服用させ、在学中は年3回のRp、2回のツ反応を実施した。卒業後8年目の昭和42年に再度Rpによる検診を実施した。在学中は服用群188名からは1名の発病者もなく、対照群204名からは4名(2.0%)の発病をみた。卒業8年後の検診では服用群62名中1名(1.6%)、対照群59名中4名(6.8%)に発病がみられた。服用群からの発病は昭和37年に起こり、きわめて軽症で1年後にはほとんど陰影が消失している。対照群の発病者は昭和38, 40, 41年に発病しており、いずれも現在なお治療継続中である。

3) BCGと化学予防を併用した結核発病防止方策

大阪市内の某小学校において昭和34年入学児童から、入学直後ツ反応を実施し、陰性、疑陽性の者にはBCGを接種し、陽性中、Ⅱ, Ⅲの者および過去にBCG接種歴なく、過去のツ反応からみて自然陽転の疑いの強い者に、INH G 200 mg を3カ月間連日服用させた。その後はツ反応が陰性、疑陽性になった者には年1回BCG接種を、その後ツ反応の経過からみて、自然陽転の疑いの強い者には化学予防を実施した。

この間、昭和37年に1名の自然陽転者を手違いから化学予防実施が遅れ、滲出性胸膜炎の発症をみたが、その他には全く発病者を認めなかった。ツ反応の推移には服用群と対照群の間に差を認めなかった。

3. 結 論

以上の成績が示すように、服用群は対照群に比し、発病率が低い傾向がみられている。

しかし化学予防実施については、次のような問題点が残されている。

① 陽転と同時の発病はこの方法では、防止できない。とくに結核患者家族、乳幼児、学童ではいまなお感染しすぐ発病する者が多く、これを防ぐことができない。

② 自然陽転の時期を掴むことが難しい。このためには少なくとも年3回くらいはツ反応を行なう必要がある。

③ 自然陽転の確認が難しい。最近ではBCGを接種した者が多く、とくに成人において、その確認はきわめて難しい。

④ 薬剤使用のための経済的負担を考慮せねばならない。

- ⑤ 薬剤服用の確実性に問題がある。
 - ⑥ 将来発病した場合に薬剤耐性の不安が残る。
- 以上から、密度の高い管理集団では、化学予防も実施

可能であるが、一般的にはやはり BCG を基盤にした予防対策が主体をなすべきであろう。

5. 陽転後のツ反応強度と化学予防の効果

札幌鉄道病院保健管理部 石 井 敬

5. Intensity of Tuberculin Reaction after Positive Conversion and Effect of Chemoprophylaxis

Takashi ISHII

1. 研究目的および研究方法

ツ反応自然陽転者に対する化学予防の効果を、陽転時ツ反応強度およびその後の経時的変動別に、発病率を指標として検討した。

自然陽転の判別が難しいので、陽転後2年間のツ反応強度の変動を5型に分類し、自然陽転が含まれる可能性の高い群と、それ以外の群とに分かつた。A型：陽性のまま持続したもの、B型：一度陰転し、再び陽転して持続したもの、C型：陰転、陽転をくり返すものの中で最終ツ反応が陽性で終わったもの、D型：同上で陰性で終わったもの、E型：陰転化しそのまま持続したもの。

対象を薬剤投与群と対照群に層化する場合、両群をできるだけ等質にする必要がある。このため薬剤服用中の陽転後1年間は除外し、両群ともに1年目以降の時点から観察を開始した。したがって両群とも1年以内の発病

例は除外されている。これは陽転直後服用前に発病した例はすべて対照群に入れられており、公平な比較が行なわれにくいためである。

対象は東京、大阪、札幌地区国鉄職員男子、35歳以下。昭和30年4月から36年3月までの6年間の陽転者2,239名(うち化学予防あり492名、化学予防なし1,747名)。

観察期間は陽転時より昭和42年3月までで、発病率は Person-Year 法で算出した。

投与薬剤は ① Pas-Cal (1日8g), ② 混合錠(1日 Pas-Cal 3~5g, INH 180~200mg), ③ INH 誘導体(1日300mg)のいずれかで、6カ月間服用させた。

2. 研究成績および考案

(1) ツ反応変動型別発病率(表1)

A型の発病率(Person-Year法)は、化学なし群で

Table 1. Incidence Rate of Tuberculosis by Pattern of Tuberculin Reaction after Tuberculin Positive Conversion

Chemoprophylaxis		Pattern	A	B	Subtotal (A+B)	C	D	E	Others	Total
Treated group	Cases		*0/1,017	1/794	1/1,811	1/447	0/237	0/105	2/865	4/3,465
	Per cent		—	0.13	0.06	0.22	—	—	0.23	0.12
Control	Cases		*5/2,353	4/2,634	9/4,987	2/2,030	1/2,109	3/1,614	4/1,877	19/12,617
	Per cent		0.21	0.15	0.18	0.10	0.05	0.19	0.21	0.15

* Number of tuberculosis cases/number of observed person-years

** 2~12 year observations after tuberculin conversion

Table 2. Incidence Rate of Tuberculosis by Intensity of Tuberculin Reaction at the Time of Tuberculin Positive Conversion

Chemoprophylaxis		Intensity of tuberculin reaction at the time of positive conversion	# +	
			Control	Treated
Intensity of tuberculin reaction one year after positive conversion	Induration	+	*3/812 0.37%	1/645 0.16%
		Control	1/1,155 0.09%	Treated 2/770 0.26%
	Induration	—	3/1,847 0.16%	0/682 —
		Control	8/8,159 0.10%	Treated 1/1,301 0.08%

* Number of tuberculosis cases/number of observed person-years

** 2~12 year observations after tuberculin conversion

0.21%, 化子あり群では発病はない。B型は化子なし群で0.15%, 化子あり群で0.13%である。A, B両型で対象の38%を占めているが、合わせて発病率をみると、化子なし群で0.18%, 化子あり群では0.06%である。陽性を持続し、自然陽転が含まれている可能性の高いこれらの型においては、化学予防が発病を抑制している傾向がみられた。

C型以下では、BCG陽性の混在、反復ツ注射等により、種々の変動のパターンを示したと考えられ、これらに対する化学予防の中には、投与の時期と対象が適当でないものもあり、結果として化学予防の効果を認めにくかった。

(2) 陽転時ツ反応強度別発病率(表2)

① 陽転時ツ反応Ⅱ・Ⅲで、1年後に硬結のあるものでは、化子なし群の発病率0.37%, 化子あり群0.16%である。1年後に硬結なしでは、化子なし群0.16%, 化子あり群では発病はない。

② 陽転時ツ反応では、1年後の硬結の有無別にみても、化学予防の効果は明らかでない。陽転時に強い反応を示す群では、化学予防が発病を抑制しているといえる。

(3) 陽転よりの期間別発病率

陽転時ツ反応Ⅱ・Ⅲで、化学子防なし群について、①陽転より1年以内、②1~7年、③7年以上の3期間の発病率は、0.77%, 0.30%, 0.11%で陽転時に近い時期に高い。

4. ま と め

陽転時強いツ反応を示すもの、あるいはそれが持続する型のものでは化学予防の効果がみられ、ツ反応が弱いもの、変動するものでは効果は明らかでない。また、陽転1年以内の発病率は高い。したがって陽転時強い反応を示したものに化学予防を早期に実施することは、発病防止上意義がある。

〔追加〕 室橋豊穂(国立予研)

① 今秋から旧ツに代えて使われる精製ツの使用量および反応の判定基準は、多くの対象について得られた成績を解析して決められた。使用量は0.05mcgで、10mm以上の発赤をもつて陽性とする。反応は旧ツに比べて明確で、明らかな硬結をふれることが多い。また旧ツに比べて非特異反応を呈することが少ないので、2nd doseを用いる場合でも10mm以上を陽性としてよい。精製ツは力価保存のために凍結乾燥された状態にあるが、溶解後はかなり急速に力価を減ずる。0~5°Cの氷室に保存する場合おおよそ1カ月程度は力価の減弱はほとんどないといえるが、量が少なくなった場合には volume effect によつて力価が低下するので廃棄してほしい。

② 4つの施設で生後10時間から10日の新生児にBCG

を経皮接種した。1カ月後のツ反応陽転率は73~90%で硬結触知率も高い。一部は1年間追求したが1年後の陽性率は約90%であった。局所変化は1カ月目は針痕に相当して大部分発赤、硬結に止まり、3カ月後にはほとんど癩痕治癒に向かい、1年目には無変化例が増加した。リンパ節腫脹は3カ月目に232例中1例(0.4%)にみられただけであった。この接種法により、生後10時間ないし10日のいかなる時期の新生児も、体重を考慮せずに安全有効にBCG接種を行なうことができる見通しを得た。

〔追加〕 近藤宏二(東大保健)

年齢階級別にみた結核有病率は今日50歳以上の老老年層に最も高い。老年結核患者の検出率を高め、その治療管理を強化すれば、小児に対する初感染防止にも有益となる。あわせてこの年齢層には呼吸器がんの発生が多く、その数は年々増加している。老年者の胸部X線集検を強化し、結核、がんの2大病を目標とした一石二鳥の対策を推進する時代に到着したと考える。

〔追加〕 重松逸造(公衆衛生院)

High risk groupの正しい把握こそ結核予防方策の効率化に重要な意義をもっていることは座長はじめ演者各位の指摘されたとおりであるが、その場合、単に発病危険率の大小だけでなく、発病者の実数についても考慮を払う必要のあること、また現実に対策の実施が可能なgroupを選出する必要があることを追加しておきたい。

〔追加〕 島正吾(名大公衆衛生)

じん肺、じん肺結核に対する肺結核発病予防、同悪化防止のための化学子防効果をみるため、前者ではじん肺なし・じん肺1型・同2+3型の3群、後者では未治療じん肺結核CB型、CC型を合併する各じん肺1型・同2+3型の4群計7群につき、投薬中止5年後の累積発病・悪化率を各群対照成績と比較した。発病予防(IHMS 0.5g/日、1年投与)では各対照の累積発病率を100とした場合、じん肺なし93.3、じん肺1型84.4、同2+3型80.4であり、とくにじん肺進展例に対する化学子防の効果は十分期待してよい。次に悪化防止(IHMS 0.5g/日、2年投与)では、合併肺結核CB型でじん肺1型63.8、同2+3型67.8、CC型でじん肺1型は悪化例なし、同2+3型62.2で化学子防としての悪化防止効果は著しい。しかしこうしたことは、化学子防というよりは変則的治療と呼ぶべきものであり、むしろじん肺結核に対する幅広く徹底した治療の必要性を示唆するものと考えられる。

〔発言〕 岡田博(名大子防)

日本の現状における結核子防方策は、感染源の除去と国民に広く免疫を与えることが第1であることを考える。そのためには国民全般に広く検診を行なうだけでなく、今日論じられたような high risk group をより広く検

討し、重点的に検診を行なうこと、BCGを有効適正に行なわねばならない。検診回数については少なくとも年1回は必要との答が出されたが、私は発病率0.05%以下のような集団ではそれでよいが、0.2~0.3%の集団では2度が必要と考える。ツベルクリン反応についてはBCG接種の普及や微量菌感染などによつて発赤10mm近くの弱陽性が増加している現状であるが、近く精製ツにかわつても、いづらか反応は明瞭になるとしても、この現象はあまり変りないので、現今の基準によつて感染を判定することは不可能であるが、この基準はBCG接種の対象を選ぶ基準として用いればよいと考える。BCG接種については回数を減らし、生後1年、幼稚園または小学校入学前、中学校入学前、高校入学前および就職前くらいにして、しつかりていねいに行なうことが

必要であると思う。また発病予防はBCGを主体とし、化学予防は再発防止の意味で用うべきものとする。

〔追加〕陽転者に対する化学予防 アンドレ・メイエ (パリ大、仏)

4,992名の小児の陽転者のうち2,018名にINHを1年間投与し、対照群2,974名の発病率と比較した。観察期間は5年である。発病率は全期間を通じて投与群1.6%、対照6.3%であり、最初の1年間はそれぞれ1.0%と4.3%、その後の4年間はそれぞれ0.6%と2.0%で、化学予防によつて発病を1/4に減らすことができた。

〔発言〕鈴木晃 (厚生省結核予防課)

本日の討議を参考にし、今年実施される実態調査の結果を待つて将来の対策を樹立していく所存である。