

第 51 回 総 会 シ ン ポ ジ ウ ム

I. *In vivo* で生育した抗酸菌の化学, 生物学, 病理学

座 長 金 井 興 美

国立予防衛生研究所

受付 昭和 51 年 9 月 9 日

The 51st Annual Meeting Symposium

I. CHEMISTRY, BIOLOGY, AND PATHOLOGY OF
MYCOBACTERIA GROWN *IN VIVO*

Chairman: Koomi KANAI*

(Received for publication September 9, 1976)

Our knowledges about mycobacteria have been obtained mostly from the bacterial cells grown on artificial culture medium, and the bacteriology as such has been contributing much to the control of tuberculosis through their application to prophylaxis and therapy. However, these knowledges are sometimes controversial and paradoxical, particularly concerning the basic aspects of tuberculosis pathogenesis. To answer the still unsettled problems in this field, we think that "*in vivo* bacteriology" will be needed.

Research on mycobacteria grown *in vivo* can be made in two different ways; one is the morphological and cytochemical observations in situ of the bacilli staying in the infected tissue and the other is the bacteriological, immunological and biochemical studies on the bacilli separated directly from the lesions.

In this symposium, Ueda reported about his histopathological observations on mycobacteria growing within mouse macrophages including the case of congenital thymus-deficient nude mice. He emphasized the close relationship between intracellular multiplication of mycobacteria and the state of cellular immunity. However, *M. avium* was rather exceptional in this regard as this species of mycobacteria could continuously multiply within "immune" macrophages.

Kondo separated and purified *M. bovis* from experimentally infected mouse lungs. Her studies on these *in vivo* bacilli showed that they were more virulent and less immunogenic than the corresponding *in vitro* bacilli. The former bacilli had a much lower content of adjuvant-active lipids. As an indication of macrophage-bacillus interaction, the *in vivo* bacilli were found to be closely associated with cholesterol esters. This host lipid, together with phthiocerol dimycocerosate as a possible surface lipid of *M. bovis*, was considered to play a role as a protective layer of the bacilli staying *in vivo*.

Azuma compared lipid composition between *M. lepraemurium* grown *in vivo* and *in vitro*. The results showed no significant difference in the general pattern of lipid composition between these two kinds of bacilli. However, an interesting observation was that *M. lepraemurium* was very similar to *M. avium* in the chemical properties of mycolic acid and the immunological specificity of protein components.

*From the First Department of Bacteriology, National Institute of Health, Kamiosaki, Shinagawa-ku, Tokyo 141 Japan.

Mori studied the cytochrome pattern of *M. lepraemurium* in comparison with other mycobacteria. A most interesting observation was that *M. lepraemurium* grown *in vivo* and *in vitro* had cyt b_1 and cyt c_2 but was lacking in cyt c and cyt a . On the other hand, *M. avium* (Kirchberg) grown *in vitro* had all these cytochrome components, but when these bacilli were grown *in vivo* they lost cyt c and cyt a . From these observations, he suggested that mycobacteria may change adaptively their terminal electron-transport system depending on *in vivo* and *in vitro* environments, but *M. lepraemurium* can not do this. He suspected that this would be the reason why it is difficult to cultivate murine leprosy bacilli *in vitro*.

Takahashi was interested in the morphology, probably L-form, of tubercle bacilli in caseous lesions. He undertook a simulation study to produce L-forms *in vitro* providing an environment analogous to caseous lesion to tubercle bacilli. He was successful in producing nonacidfast cocci-like structure from tubercle bacilli by cultivating them in a medium of his device under fairly anaerobic conditions, and in reverting them to the original acidfast rods by bringing them back to an aerobic environment. From these observations he discussed about the ecology of tubercle bacilli in caseous lesions and cavity.

Iwai reported about his experiences of Nyka stain of tubercle bacilli in caseous lesions. He stated that a part population of nonacidfast bacilli in the lesions can be stained by this method. He further proceeded to an *in vitro* model experiment with H₃₇Rv strain grown on Sauton synthetic liquid medium and stored by being overlaid with liquid paraffin at 37°C for 12 years. It was surprising that viable tubercle bacilli were still recovered from this long stored culture. There were also many ghost cells retaining their original dimension in resisting autolysis. This culture was further studied by Nyka stain, scanning- and transparent- electronmicroscopy to confirm the above observations. Valuable suggestions were presented from this study concerning the fate of tubercle bacilli in tuberculous lesions.

は し め に

座 長 金 井 興 美

私達の抗酸菌に関する知識は、ほとんどが人工培地上で発育した菌について得られたものであり、こうした細菌学はそれを予防とか治療に応用することによつて結核症の制御に大きく貢献してきた。しかし、その知識も時として矛盾し逆説的であり、特に結核症の病因の基礎的な面についてはしばしばである。この分野における未解決の問題の解明には、私達は *in vivo* の細菌学というべきものが必要であるとする次第である。

このシンポジウムにおいて上田は、マウスのマクロファージ内で増殖する菌について報告し、先天性胸腺欠乏マウスでの組織学的観察をもつて加えて論じ、細胞内増殖と細胞免疫との密接な関係を強調した。*M. avium* のみは例外で、免疫マクロファージ内でも増殖を続ける傾向を示した。

近藤は実験的感染マウス肺から *M. bovis* を分離精製し、このものについて研究したところ、この *in vivo* 菌は *in vitro* の同株よりも毒力が強く、しかし抗原性の弱

いことを見出した。また、*in vivo* 菌はアジュバント活性のある脂質量の少ないことが証明された。マクロファージとの相互作用の結果を示す指標として *in vivo* 菌はエステル型コレステロールを密接に保持しており、またこの宿主脂質は、菌体表層脂質とみなされる phthiocerol dimycocerosate と一緒になつて、*in vivo* の菌にとつての一つの防御層をなしていると考えられた。

東は *in vivo* あるいは *in vitro* で発育したそらい菌の脂質分析を試み、脂質分画の一般的分布に関して大差のないことを報告した。しかし興味ある観察は、マイコール酸の化学的構造において、そらい菌は *M. avium* に類似し、蛋白分画の免疫学的特異性においても両者は近いことが判明した。

森は *in vivo* あるいは *in vitro* 発育のそらい菌のチトクローム系を他の抗酸菌のそれと比較した。最も興味ある観察として、*in vivo* 発育のそらい菌は cyt b_1 と cyt c_2 はあるが cyt c と cyt a は欠除していた。一方、

M. avium は *in vitro* で発育するとこれらチトクロームをすべて保有していたが、*in vivo* で生育すると、そらい菌と同じく *cyt c* と *cyt a* を欠除した。これらの観察から、結核菌を含めて抗酸菌は適応的にチトクローム系をかえることができ、*in vitro* と *in vivo* の環境に応じてその終末電子伝達系の切替えをしていることが示唆され、そらい菌はそれができないものと考えられた。

高橋は乾酪巣における結核菌の形態、ことにL型に関心をもち、その可能性について *in vitro* で模擬実験を行なった。彼の工夫した培地で比較的嫌気的条件下で結核菌を培養し、それから非抗酸性の球菌様形態を産出するのに成功し、また環境を好氣的に戻すことにより、抗酸性桿菌に戻ることも見出した。このことから、乾酪巣や

空洞における結核菌の形態変化を推論した。

岩井も乾酪病巣中の結核菌に興味をもち Nyka の染色を応用してこの病巣中の菌を検出した。抗酸性に染まらない病巣中の菌の一部は、Nyka の染色陽性であり、その条件についても検討された。更に *in vitro* のモデル実験に進み、ソートン培地発育の $H_{37}Rv$ 株を流動パラフィンを重ねさせて 37°C 12 年間放置した培養について検討した。おどろくべきことに、この長期保存の培養からいまだに生菌が回収され、また内容を失ったゴーストの菌体がふつう菌の大きさを維持して多数みられ、自己融解にも強いことが示された。これについても、Nyka の染色や、走査電顕、透過電顕による観察がなされ、病巣中の結核菌の消長に関する有益な示唆が得られた。

1. 抗酸菌の細胞内寄生性と組織反応の型—マウスの実験結核を中心として

東大医科研獣医学研究部

上 田 雄 幹

In vivo 菌の生化学的、細菌学的あるいは病理学的諸報告への導入の意味で、生体内での抗酸菌の所在を、形成される病変との関係から述べる。材料としては、マウスに牛型結核菌(強毒株 Ravenel, 弱毒株 BCG)あるいは鳥型結核菌(Flamingo 株)を接種し得られた病変を組織学的に検索した。宿主側のマウスとしては結核感染に感受性、抵抗性のいくつかの系統のほかは無菌マウスおよび先天性胸腺欠損ヌードマウスを使用した。宿主と菌の組合せおよび感染後の時間的経過により各種の病変が得られたが、これらを多少とも整理して紹介するため、緒方により提唱された抗酸菌による3病型; 肉芽相, 共生相および滲出・壊死相に準じ3項に分けた。

肉芽腫型(類上皮細胞性): マウスでは通常定型的な結核結節ができず、類上皮細胞も定型的なものは出現しないが、他の動物の類上皮細胞結節に相当する結節は各種の臓器に出現する。結節はよくまとまつた小型のもので、構成細胞は大型で胞体は弱好酸性、類円形の淡明核を持つ。肝、脾などでは通常この型がみられ、弱毒株感染あるいはマウスの抵抗性が強い場合には肺などに形成される。強毒株感染の場合には、肺ではこの型にとどまらずに、感染菌量、経路、感染後の期間によるが、後述の2つの型に移行する。肉芽腫内の抗酸菌はかなり少ないのが普通で、結節構成細胞のいくつかのものに1~数コ散在してみられる場合が多い。BCG 感染の場合にはこのような状態で長期間抗酸菌がみられる。鳥型菌感染後出現する類似の肉芽腫では抗酸菌がかなり多いのが特徴である。

びまん性繁殖型および貯留細胞型: びまん性に単核性貪食細胞が増生する場合があり、強毒株感染の肺では、この型かあるいは最後に述べる滲出・壊死型になりマウ

スは斃死する。肺では、繁殖した単核性貪食細胞内に多くの菌を認める部分もあるが、また、胞体内に空胞が多数形成されいわゆる泡沫細胞の形を呈する場合もしばしばみられる。この泡沫細胞では菌は少数しか認められないことが多い。肺のほか、強毒株感染では腎、胸腺、消化管あるいは心に菌を富有する細胞の繁殖巣をみる場合がある。無菌マウスでは脾にもこの型の病変が出現した。弱毒株感染では通常この型はみられないが、ヌードマウスに BCG を接種した場合には単核貪食細胞内に菌が多い病巣が形成される。肝では結節を形成する傾向が強いが、類上皮細胞性結節と異なり胞体には多数の抗酸菌が認められる。脾、リンパ節にも菌の多い細胞の繁殖をみ、まれには極めて多数の菌富有細胞のびまん性繁殖巣も出現した。BCG 感染後時期が経つと(3~6ヵ月)大型単核細胞の胞体が膨満し、胞体内に物質が沈着したごとき状態が普通染色で認められ、あたかも脂質代謝異常の際にみられる貯留細胞に酷似した形態を示し、はじめは胞体内に抗酸菌が充満しているが、更に時期を経る(12ヵ月)と胞体内には抗酸菌は短小なものが散在するのみで黄褐色顆粒が充満し、この部分は PAS あるいは Grocott 染色陽性を呈する。このような貯留細胞繁殖巣は肝、脾、リンパ節、骨髄にみられた。貯留細胞型病巣は鳥型菌感染の場合により典型的に現れた。鳥型菌感染の場合も感染後 3~6ヵ月を経るとヌードマウスの場合には種々の臓器で肉芽腫型とともに貯留細胞型病巣が混在し、癩腫型癩の病巣に極めて似た形態を呈した。鳥型菌では、ヌードマウスのみならず、胸腺をもつマウスにも貯留細胞型繁殖巣がみられ、胸腺、腸管粘膜固有層などに出現した。

滲出・壊死型: 滲出壊死性病変は、強毒株感染後の肺、

時に腎などに出現する。比較的大型の壊死性病巣では中心部は弱好酸性無構造で、この部分は比較的抗酸菌は少ない。その周辺には核崩壊、好中球浸潤が目立ち、肺胞大の大きさの集塊として散在する。この部には細胞外に多数の抗酸菌を認める。この壊死細胞に混在して抗酸菌が胞体に充満している細胞が散見され、単核貪食細胞で菌が著しく増殖し細胞を崩壊に至らしめ、このような壊死巣が形成されたとみなされる所見を呈している。無菌マウスの例では心にも滲出・壊死性病巣が出現した。更にヌードマウスでは、強毒株感染後、肝、脾、リンパ節、骨髄などにも滲出、壊死性病巣がみられる。抵抗力が著しく弱いヌードマウスでは弱毒株によつても滲出・壊死

性変化が多少とも各臓器に現れるが、とくに長期間を経ると、腎、中耳、内耳、関節などに広範な滲出・壊死巣が形成される。鳥型菌によつては、滲出・壊死性病変はほとんどみられないが、極めて長期、約 400 日を経た例では滲出・壊死型になる場合も観察された。

以上、種々の型の病変がマウスと抗酸菌のいろいろの組合せで出現するが、その病変は 3 型に大別することができ、それぞれ菌の存在状態に特徴があること、使用したどの菌株でも、宿主と感染条件を選ぶことにより 3 型を作出しうることを示した。なお、極めて特殊な条件下では、抗酸菌が肝細胞内でも増殖する場合があることも認めた。

2. *In vivo* 菌の性状よりみた宿主寄生体関係

国立予防衛生研究所結核部

近 藤 瑩 子

私達はソートン合成培地上发育の強毒 *M. bovis* (Ravenel 株) でマウスを静注感染し、その斃死直前の肺ホモジネイトより分別遠沈とトリプシン消化によつて菌を取獲精製し、これを *in vivo* 菌標本とした。*in vitro* 菌 1 mg/ml ふゆう液と同一濃度とし、両者の生菌単位数を比較したところ、*in vivo* 菌標本は常に多少よい生菌数を示した。また、この菌に特有な脂質である phthiocerol dimycocerosate と arabinose mycolate の含量、あるいはカルジオリピンの構成脂肪酸中の tuberculostearic acid の % 分布を *in vitro* 菌と比較した場合も、*in vivo* 菌標本の純度は極めて高いことが示された。

しかしながら、*in vivo* 菌は *in vitro* 菌と異なり親水性で水によく分散し、4% NaOH や 90% アセトンに対する暴露によく耐えて生菌数を維持し、また、宿主細

胞由来のライソゾーム水解酵素活性を示し、更にはその純度が高まるにつれて宿主脂質であるエステル型コレステロールの量が高まるなど、菌体が宿主細胞とつよい交渉をもち、その物質を密接に保持している特徴がみられた。

このような *in vivo* 菌標本を用いて、正常ならびに BCG 免疫マウスにおける毒力を同量の *in vitro* 菌と比較したところ、肺、脾での菌数消長における両者の差異は感染早期に著明であつた (Fig. 1, 2)。*in vivo* 菌は組織定着後、菌数の一時的減少をみることなく速やかに増殖を開始し、また、BCG 接種による防御反応に対しても感受性が少なく、その意味で毒力の高いことが示された。

また *in vivo* 菌標本を加熱死菌とし、流動パラフィン

Fig. 1. Virulence of *In vivo* and *In vitro* Bacilli in Normal Mice

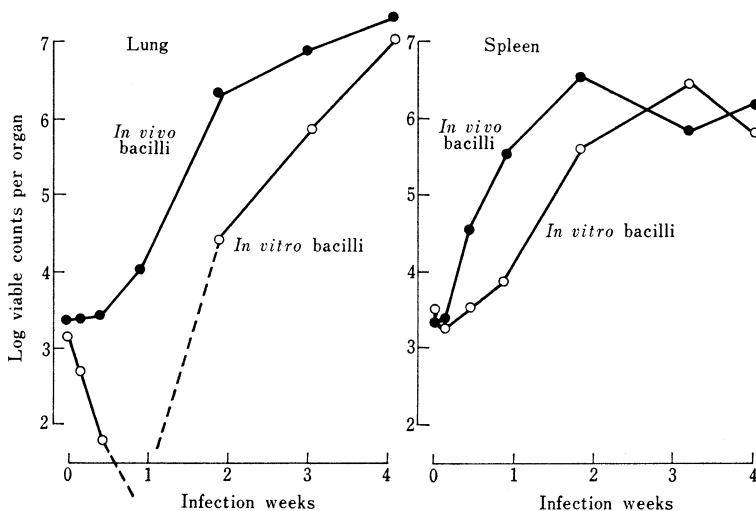


Fig. 2. Virulence of *In vivo* and *In vitro* Bacilli in BCG-vaccinated Mice

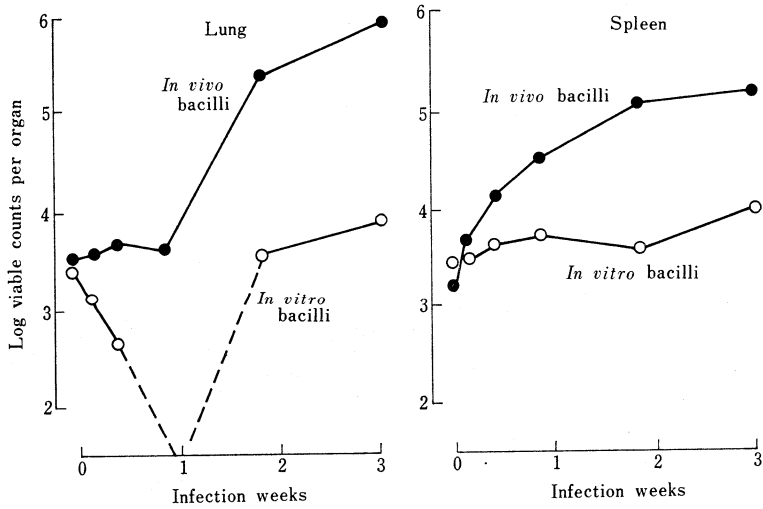
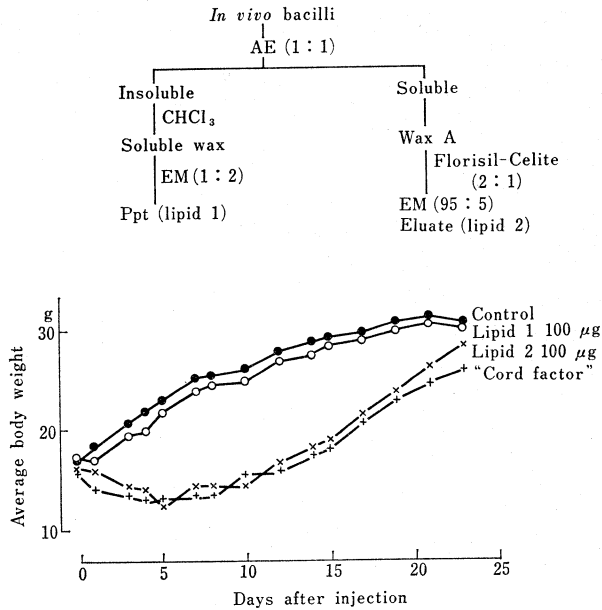


Fig. 3. Isolation of A Toxic Lipid from *M. Bovis* Grown *In vivo* Bacilli



にかべてモルモットを感作し、更に攻撃感染を行なつて防御効果を検討したところ、その成績は Table のごとくで、0.025 mg 接種の際に同様処理の *in vitro* 菌との差異が明瞭に表現され、*in vivo* 菌の方が感作防御いづれの面でも抗原性のひくいことがわかつた。

次に、*in vivo* 菌においてはクロロホルム可溶の hard wax が少なく、一方 soft な wax A が相対的に多いので、このものの分析をすすめたところ、この分画中に phthiocerol dimycocerosate とその類縁物質が占める量が *in vitro* 菌よりも高く、他方、*in vitro* 菌では main リピドである glyceryl monomycolate が全くない

ことがわかつた。しかし cord-factor 様の毒性を示すリピドもこの分画中から得られ、その成績は Fig. 3 の通りである。

以上の成績は、*in vivo* 菌が *in vitro* 菌よりも毒力がつよく、しかし抗原性の弱いことを示唆し、その理由として、アジュバント活性のある hard wax や結合脂質の少ないこと、また、菌体表面が宿主由来の脂質（コレステロールエステル）で包被されて、“self”に近い状況にあるなど考えられたが、後者の可能性を検討する目的として、*in vitro* 菌をコレステロールエステルと phthiocerol dimycocerosate で “coat” し、マウスに静

Table. Sensitizing and Protective Immunogenicities in Guinea Pigs of Oil-Suspended Heat-killed *M. Bovis* Grown *In vivo* and *In vitro*

Vaccinated i. m. with	Vaccine dose (dry weight)	Tuberculin allergy	Protection
		Average size of skin reactions to 1 μ g PPD (mm)	Viable counts of challenge strain (H ₃₇ Rv) from 100 mg lung tissue
<i>In vivo</i> bacilli	1 mg	19.5 \pm 3.70	1,620 \pm 1,000
	0.025 mg	0	27,800 \pm 6,610
<i>In vitro</i> bacilli	1 mg	25 \pm 2.65	380 \pm 330
	0.025 mg	20 \pm 3.65	670 \pm 560
None		0	9,130 \pm 2,350

* Oil-in-water suspension prepared with the aid of tween 80
 Vaccination.....Challenge.....Sacrifice
 3 wks ↑ 3 wks
 Tuberculin test

注感染した。“uncoat”の菌接種動物と比較し、肺においても脾においても速やかに菌の増殖が開始され、*in*

in vivo 菌感染のときとよく似た菌数消長がみられた。

3. *In vivo* および *in vitro* で生育した *M. lepraemurium* Hawaii の菌体成分の生化学的研究

大阪大学医学部第3内科 東 市 郎

周知のように *Mycobacterium lepraemurium* は鼠癩結節内において長期にわたり生育するが試験管内培養が甚だ困難な抗酸菌である。近年小川らは1%卵黄培地で *M. lepraemurium* Hawaii 株の *in vitro* 培養に成功した。本研究は *in vitro* (鼠癩結節) 生育および *in vitro* (1%小川卵黄培地) 生育の *M. lepraemurium* Hawaii 株の菌体成分(主として細胞壁)の生化学的研究を通して両者の比較を行ない、かつ *M. lepraemurium* Hawaii 株の *mycobacteria* における分類上の位置を明らかにすることを目的として行なわれた。

In vitro 生育菌は4週齡 C₃H マウスの皮下に *M. lepraemurium* Hawaii 株の鼠癩結節の希釈液を移植し、6カ月後鼠癩結節を集め、ホモジナイズ後分画遠心により集菌した。マウス体脂質の混入を除くため菌体を有機溶媒で繰り返し抽出し、菌体残渣を出発材料として超音波破碎により細胞壁を調製した。*In vitro* 生育菌は小川博士より分与された。*M. lepraemurium* Hawaii 株と1%小川卵黄培地に2カ月培養して得た菌体を Sorvall 細胞分画機で 40,000 Psi で破碎し分画遠心により得た粗細胞壁画分を、更に蛋白分解酵素処理、有機溶媒抽出を繰り返して精製細胞壁画分を調製した。

In vivo および *in vitro* 生育の *M. lepraemurium* Hawaii 菌体から精製した細胞壁は表に示すようにそれぞれ mycolic acid を 34.3%, 28.4%, arabinogalactan (中性多糖体) を 30.4%, 32.5% とそれぞれ約 20% の

mucopptide を含む。Mucopptide の主要構成成分として、alanine, glutamic acid, diaminopimelic acid, glucosamine, muramic acid を含む。以上の結果から *in vivo*, *in vitro* 生育の *M. lepraemurium* Hawaii 株の菌体の細胞壁も他の *mycobacteria* の細胞壁と同様に “mycolic acid-arabinogalactan-mucopptide” 複合体の基本構造を有することが明らかである。

細胞壁からアルカリ水解により得られた mycolic acid をメチルエステルとして薄層クロマトグラフィーおよび質量スペクトルによる分析の結果、両細胞壁の mycolic acid と主として4群の mycolic acid (mycolic acid -a, -b, -c, -d) からなり、mycolic acid-a はいわゆる α -mycolic acid であり、 α 位に C₂₂ の分岐を、 β 位に水酸基を有する C₇₆~C₈₄ の超高級脂肪酸であることが明らかにされた。

両細胞壁からアルカリで抽出された中性多糖体は D-arabinose と D-galactose からなる arabinogalactan であり、細胞壁で免疫したモルモットに対しアルサス型の皮内反応を示し、抗血清に対し強い沈降反応などの血清反応を示す。更に *M. lepraemurium* Hawaii (*in vivo* 生育) 菌の細胞壁から精製した arabinogalactan は種々の *mycobacteria* に対する抗血清に対して強い血清反応を示すのみならず nocardia, corynebacteria の抗血清に対しても交叉反応を示すことから、*M. lepraemurium* Hawaii から得られる arabinogalactan, mycobacteria,

Table Chemical Compositions of the Cell Walls Prepared from the Cells of *M. lepraemurium* Hawaii Grown on Ogawa's 1% Egg Yolk Medium and in C₃H Mice

Compositions	The cell walls prepared from the cells of <i>M. lepraemurium</i> Hawaii grown:	
	on 1% Ogawa's egg yolk medium	in C ₃ H mice
Lipids(mycolic acid)	28.4%	34.3%
Polysaccharide	32.5%	30.4%
sugar composition	arabinose(2.73)	arabinose(2.80)
(molar ratios)	galactose(1.0)	galactose(1.0)
Amino acids and amino sugars	μM/mg(molar ratios)	
alanine	0.278(2.29)	0.336(2.36)
glutamic acid	0.185(1.52)	0.165(1.16)
α,ε-diaminopimelic acid	0.215(1.77)	0.189(1.33)
muramic acid	0.113(0.93)	0.141(0.99)
glucosamine	0.121(1.0)	0.142(1.0)
aspartic acid	0.032(0.26)	0.052(0.36)
serine	0.022(0.18)	0.036(0.25)
glycine	0.043(0.35)	0.094(0.66)
leucine	0.027(0.22)	0.057(0.40)

nocardia, corynebacteria に共通の血清反応多糖体であろうと考えられる。Arabinogalactan の基本構造についても検討され、*M. bovis* BCG のそれとほぼ同様の構造を有することが明らかにされた。

M. lepraemurium Hawaii(*in vivo* 生育) 細胞壁の mucopeptide 部分の化学構造についても検討し、他の mycobacteria の細胞壁と同様に *N*-acetylglucosaminyl-β-1, 4-*N*-glycolylmuramic acid を基本単位とする glycan 部分と Ala-Glu-Dpm-Ala の tetrapeptide 部分からなり tetrapeptide 部分の分子間に交叉結合があり細胞壁としての強固性を強めていることが明らかにされた。

以上の結果から明らかなように、*in vivo* および *in vitro* 生育の両 *M. lepraemurium* Hawaii 株の細胞壁はほぼ同様の生化学的性状を有しており、両細胞壁間に大きな差を認めることができなかった。

更に *in vivo* および *in vitro* 生育の *M. lepraemurium* Hawaii の両菌体より山村らの方法で皮内反応抗原ペプチドを精製し、他の mycobacteria, nocardia, corynebacteria の菌体より同様の方法で精製した皮内反応ペ

プチドとの交叉反応性を検討した。*In vivo* および *in vitro* 生育 *M. lepraemurium* Hawaii 株の菌体から精製した皮内反応ペプチドはそれぞれの菌体で免疫したモルモットに対し強い遅延型の皮内反応を示し、互いに強い交叉反応性を示し、*M. avium* 4110 株と中等度の交叉反応性を示したが他の mycobacteria, nocardia, corynebacteria とは交叉反応性を示さなかった。

〔結論〕 *In vivo*, *in vitro* 生育の *M. lepraemurium* Hawaii 株の細胞壁の生化学的研究の結果、両者に差が認められなかった。更に細胞壁の生化学的性状を皮内反応ペプチドの免疫学的交叉反応性から *M. lepraemurium* Hawaii 株は分類上 *M. avium* に近い位置に属するものと考えられる。

文 献

- 1) Azuma, I., Yamamura, Y., Tanaka, Y., Kosaka, K., Mori, T. and Itoh, T.: J. Bacteriol., 113: 515, 1973.
- 2) Azuma, I., Yamamura, Y. and Mori, T.: Japan. J. Microbiol., 19: 333, 1975.

4. 生体内増殖と試験管内増殖の抗酸菌の生化学的性状

大阪大学微生物病研究所 森 竜 男

1952年 Gray は生体内増殖の鼠癩菌を用いてワールブルグ検圧計にて酸素の消費を測定するに、加えた基質に見合う酸素消費がみられないことを報告した。1956年に Segal と Bloch は結核菌においてもマウス肺に増殖

した H₃₇Rv は鼠癩菌と同様な性質を示すことを報告した。これらの成績から鼠癩菌の培養困難な原因が呼吸酸素系にあると考え鼠癩菌培養の手がかりを得るためにこの研究を始めた。

Fig. 1. Oxido-reductive Difference Spectra of Cytochromes in *Mycobacterium lepraemurium*

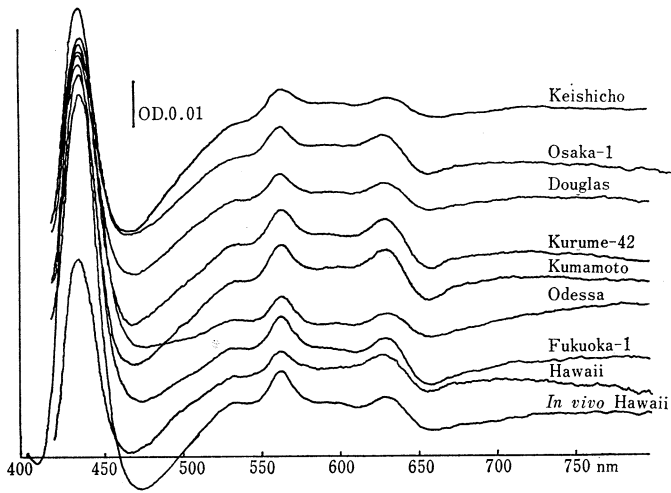
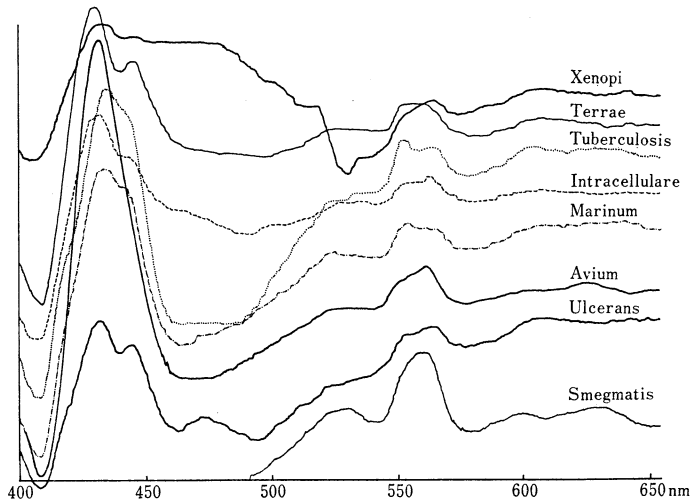


Fig. 2. Oxido-reductive Difference Spectra of Cytochromes in the other Mycobacteria

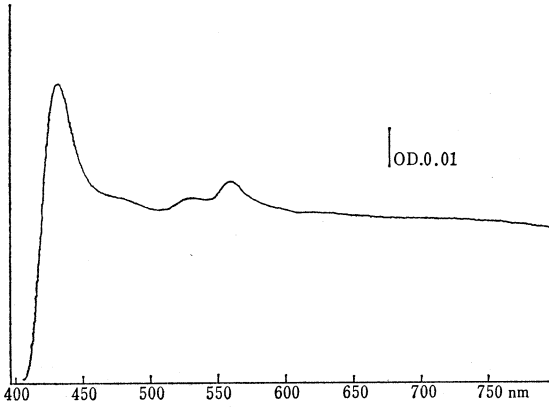


鼠癩菌の無細胞抽出液にリンゴ酸脱水素酵素活性のあることを見出して、クエン酸サイクルの酵素系をしらべるに、脱水素反応を伴わないフマラーゼ、アコニターゼおよび縮合酵素活性はかなり強いが、コハク酸脱水素酵素活性は人工色素であるフェナジンメトサルフェイトを加えなければ反応が進行しないことを見出した。このことから鼠癩菌の終末電子伝達系を研究することになった。

Fig. 1 に生体内増殖および1%小川卵黄培地のみ増殖する鼠癩菌の、Fig. 2 に容易に培養しうる他の抗酸菌の酸化還元差スペクトルを示した。Fig. 1 にみられるように生体内増殖の鼠癩菌のチトクロームには560 m μ の cyt b₁ と 630 m μ の cyt a₂ はみられるが、550 m μ の

cyt c と 605 m μ の cyt a がみられない。それに反して Fig. 2 にみられるように容易に培養できる抗酸菌のチトクロームにはすべて550 m μ 付近に cyt c の峯か肩が検出される。しかるに Fig. 1 に示すように培養困難な鼠癩菌は1%小川卵黄培地上に増殖した培養菌であるにもかかわらず8株すべての菌株において生体内増殖のハワイ株と同様のチトクロームをもち、cyt c および cyt a の峯は検出できなかつた。チトクローム c をもっている鳥型菌 Kirchberg 株でもマウス体内にて増殖した菌においては Fig. 3 に示すように cyt b₁ の峯のみみられ、cyt c および cyt a の峯はみられなかつた。Fig. 2 の培養鳥型菌のチトクロームスペクトルと比較すればその差が著明であり、Fig. 1 に示した鼠癩菌のチトクロームスペク

Fig. 3. Oxido-reductive Difference Spectra of Cytochromes in *In vivo* grown *Mycobacterium avium* Kirchberg



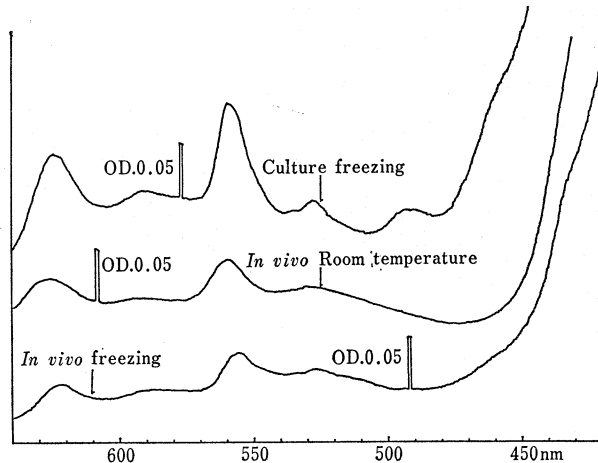
トルに似ている。このように容易に培養できる抗酸菌でも生体内増殖の菌では鼠癩菌と似たチトクロームをもっているが、培地に移したときに適応的に cyt c および cyt a を産生する。これに反して鼠癩菌は適応的に cyt c および cyt a を作る能力が欠損しているといえるであろう。鼠癩菌の試験管内増殖が困難であった理由の一つがここにあると思う。

生体内増殖および試験管内増殖鼠癩菌のチトクロームを液体窒素にて凍結せしめた状態で観察するために、大阪大学医学部第2生化学の萩原教授の協力を得、佐藤博

士により Chance の Split beam spectrophotometer を用いて測定していただいた結果を Fig. 4 に示した。還元にはハイドロサルファイトを用いた。室温の酸化還元差スペクトルが中央に示してあるが、cyt a₂ が 627 mμ に cyt b₁ が 560 mμ に峯を示すのみである。これに比べ生体内増殖ハワイ株では凍結による影響でチトクロームの吸収の峯がやや短波長側に移り、cyt a₂ および cyt b₁ のほかに 590 mμ に cyt a₁、460 mμ と cyt a₂ の Soret の肩がみられる。培養ハワイ株の凍結スペクトルではその他に 490 mμ に不明の峯が現われているが、このものが生理的条件において峯を示すかどうかは不明である。卵黄培地の卵黄の黄色の色素をとつて増殖しているの、ハイドロサルファイト還元の結果、この黄色の波長のところに峯が現われたのかもしれない。凍結菌のチトクロームの酸化還元差スペクトルをみても cyt c および cyt a の峯がみられないので鼠癩菌は cyt c と cyt a を欠くといえるのではなからうか。

結論：生体内増殖の抗酸菌は鼠癩菌と同様な終末電子伝達系をもっているが、試験管内に培養されたときには適応的に cyt c と cyt a が産生され、培地上で培養容易な酵素系が変わるのであろう。結核菌においても同様であろうから Seagal と Bloch の報告した現象がチトクロームの面から考察される。これと同時に鼠癩菌の培養困難な理由が適応的に cyt c と cyt a を作る能力がないことによると推測できる。

Fig. 4. Oxido-reductive Difference Spectra of Cytochromes in *Mycobacterium lepraemurium* under Freezing State



5. 結核菌の L 型発育 — 乾酪巢内の Simulation の一つの試み

結核予防会結核研究所 高橋 昭 三

乾酪巢内には、抗酸性桿菌型とは異なつた結核菌の生存様式があると推定される。宿主は乾酪巢の存在によつ

て、ツベルクリンアレルギーを維持することから、ここには抗酸性桿菌以外の、代謝する結核菌の世代がなけれ

ばならない。また、乾酪巢の融解によつて生ずる空洞からの排菌は、化学療法開始により速やかに止み、化療中止により、速やかな大量排菌の再開がみられることは、抗結核剤の影響を受けない、抗酸菌以外の世代から、抗酸菌が生成する可能性を示している。私もは切除肺空洞の乾酪巢切片において、HE 染色では均等にエオシンに染まる部分に、ギムザ染色でアズール好性を示す大小不同の球形顆粒を認めた。この染色性などから考え、他の細菌のL相に類似性を求めることができる。

L相の菌は、もとの菌よりも通常より嫌氣的な条件で増殖し、大きさが著しく小さいため、容積は小さく、生菌単位は著しく多い。その世代での薬剤耐性の上昇はなく、もとの菌に復帰する。これらの条件は、乾酪巢内の結核菌の生態をよく説明しうる。

1. 結核菌のL相化の条件

乾酪巢の条件を考えると、白血球の死により、中の結核菌は、はじめやや嫌氣的な、のちに CO_2 5%, pH 7.4 で高濃度のタンパクの存在する条件におかれるはずである。これを考慮し、培養条件を検討し、次のような培地を用い、DL メチオニン、ペニシリン化合物等を inducer とすることが適当であることを見出した。血球抽出液で作つたトリプトソイカンテンに、シュクロース約15%, MgSO_4 約 0.2%, DL メチオニン約 0.1%, 馬血清約 10% を加えて平板とし、48時間培養の結核菌等の抗酸菌を接種し、約 5% に CO_2 を含む気相中で培養すると、発育の速い抗酸菌では7日後に、結核菌では 2~3 週後に、L相集落の発現をみた。Large body, elemental body の出現、集落の性状、L相からのもとの菌への復帰も観察した。その経過の模式図を図で示した。

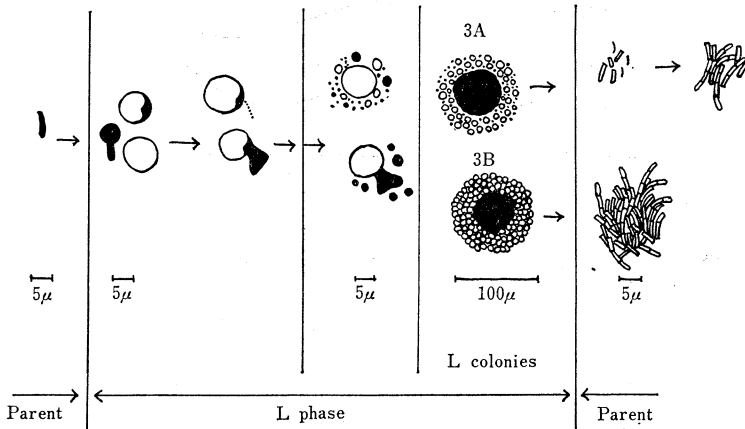
2. *M. smegmatis* 607 株を用いた L 相の発育様式の観察

48 時間培養の *M. 607* を上記培地に接種し、リゾチーム、ペニシリン化合物 (β ラクタマーゼ抵抗性ペニシリンと V ペニシリンの混合物) を培地にのせ、菌の形態学的変化を 16 ミリ微速度撮影により観察した。また、生じた L 相菌集落を、シュクロース加トリプトソイグゼリンカンテンに impression によつて接種し、桿菌集落となるのを認めた。すなわち、はじめ桿菌は、径 5~15 μ の球形となり、それが増殖して集落をつくる。これは Dienes の 3B 型または 3A 型に相当するものであつた。このとき、接種した桿菌の 90% 以上が L 相化した。3B 型集落を復帰用培地に移し空気に接触させると、12 時間以内に桿菌への移行がみられ、24 時間以内に桿菌集落が生成した。サイクロセリンとペニシリンを inducer としたとき、プロトプラストとなり、細胞径が 30~50 μ に達し、3~4 日後に ghost 化するのみみられた。

3. 結核菌の L 相の生成

人型結核菌分離株の 48 時間培養を、上記培地に接種し、サイクロセリンとペニシリン化合物を添えて培養すると、3~5 日で 5~20 μ の球状体を生ずるが、L 相化率は約 5% 程度であつた。他の菌と同様、Large body (上記球状体) の生成、それから小さな elemental body の流出がみられ、3 週後に L 相集落がみられた。これは肺炎球菌の L 相集落に類似していたが、集落周囲の発育が不整であることを特徴とした。H₃₇Rv 等の保存株からは、不全型の L 相発育がみられるのみであつた。また、こうして得られた L 相の菌は、もとの株が SM, PAS, INH, Th, Eb に感受性が高いにもかかわらず、感受性

Fig. L Phase and Life Cycle of Mycobacteria



を示さなかつたが、復帰した抗酸菌は、もとの株と同様の生物学的性状と薬剤感受性を示した。

3. その他の抗酸菌のL相

M. avium フラミンゴ株で、嫌気培養により、L相集落を生じたが、他の多くの細菌種、抗酸菌、たとえば結核菌等とは明らかに異なるL型集落であつた。

6. 生体内、殊に乾酪巣内の結核菌について

結核予防会結核研究所病理 岩井和郎

人体結核病巣内で結核菌のみられる場所は、その生棲環境の差から3つに大別できる。第1は感染初期のマクロファージ内の菌で、食真空胞内でライソゾーム水解酵素の作用を受けつつ、その代謝産物や菌体成分は生体の免疫学的応答をひきおこし、菌と生体とが最も活発にかかわり合う時期である。第2は菌と生体との戦いの結果、組織が凝固壊死に陥つたときの乾酪巣内の菌で、酸素供給の悪化した環境で菌は dormant な状態となる。第3は軟化融解した乾酪巣すなわち空洞内で、菌は洞壁乾酪物質表面に集落を作つて発育し、その大部分は細胞外にあり、固型培地上に発育しつつある *in vitro* 菌に近い条件にある。

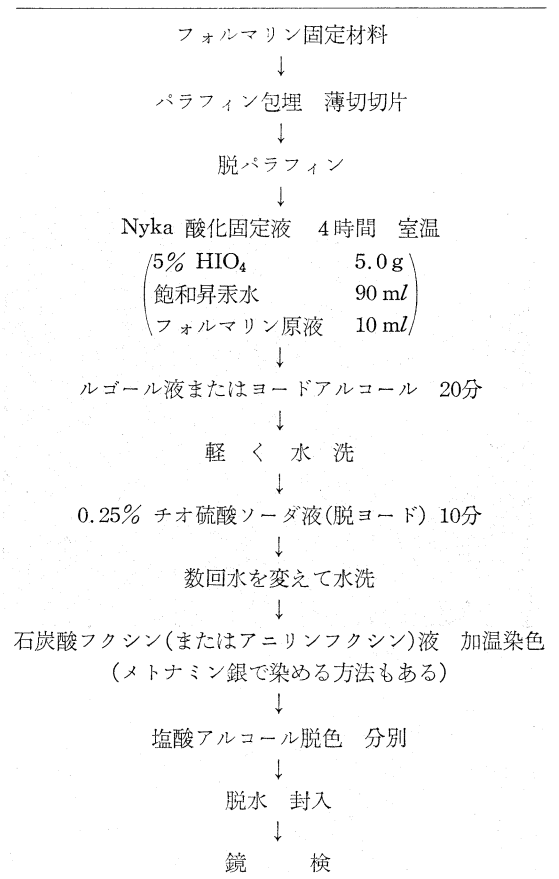
乾酪巣内の結核菌の動態については、古く隈部のアニリンフクシングラム重染色による観察があり、病巣内で結核菌は次第に抗酸性を失うとともにグラム陽性顆粒が菌体内に並ぶのみられ、それも次第に短くなり、ついには見えなくなる。しかし洞化により好気性の環境になると、前と逆の過程で再び抗酸性桿菌が出現すると述べた。一方、Nyka は最近、乾酪巣を過沃素酸または過酸化水素水を含む固定液で固定した後、型のごとくパラフィン包埋し、その薄切片をもう1度酸化してから石炭酸フクシンかメトナミン銀で染めると、通常は染まらない結核菌も染まつてくることを報告し、乾酪巣内の菌が染まらないのは菌体成分の還元が関係しているためとした。

Nyka の原法は、材料の固定から所定の液を用いなければならぬため、ホルマリン固定の日常の標本については実施できない不便がある。そこでホルマリン固定材料からパラフィン切片を作成した段階で Nyka の酸化固定液を作用させる変法(表1)を用いて、抗酸菌染色を行なつてみた。多くの乾酪巣で、通常の抗酸菌染色に比べてかなりよく結核菌を染め出すことができ、なかには前者でほとんど染まらない病巣に多数の菌が染まつてくるものもあつた(表2)。そのさい、切片を固定液をぬいた酸化液のみで処理したときは、効果が認められな

4. むすび

上に述べたように、抗酸菌には、他の菌種と同様にL相が存在する。結核症には乾酪巣内の結核菌の生態など未解決の問題が多いが、薬剤感性菌感染症に抗結核剤の無効な場合があり、この所見は、肺炎球菌のL相感染症によく似ている。結核菌のL相の検討は、こうした問題の解決に役立つであろう。

表1 フォルマリン固定材料における Nyka 変法



つた。また Nyka 酸化固定液処理ですべての乾酪巣内に菌が染まるわけではなく、染まる病巣でもその一部にしかみられず、菌は桿菌とともに短桿菌や顆粒状に近い菌などもみられ、単に桿菌のまま抗酸性を失っているだけではなく、菌体の短縮も併せて起こっていると思われた。

なおこの方法で染めた菌は、太く境界のぼけた形に染まり、背景の共染もあり、更に気管支粘液細胞や PAS 陽性細胞内顆粒も染まつてくるなどの点より、生きた組

表 2 乾酪巢内結核菌染色における Nyka 処理の影響

標 本 番 号	アニリンフク シンのみ	Nyka 処理後ア ニリンフクシ
1309	+	++
1327-1	+	++
-2	+	+
1370-3	+	+++
-4	-	+
-6	-	+
1681	+	+
1683	+	++
2821-1	+	+
-2	+	+++
N. Y.	+	++
1589-4	-	-
-5	-	+?
1644-2	+	+
-6	-	+++
1651-7	-	+
1658	-	+

織内の菌をみるときよりも乾酪壞死巢内の抗酸菌を探すときに有用な方法といえる。

人体乾酪巢内の結核菌の形態的变化を、電子顕微鏡レベルで追求することを目的として、まず *in vitro* で長期に低酸素状態においた菌の形態的観察を行なった。Sauton 培養 H₃₇Rv の菌膜の上に流動パラフィンを厚く重層し、最長 12 年間 37°C においた菌が、当所湯沢健児、兼松一郎、内山花子の各氏の努力で保存されており、その中から少数ながら結核菌が培養できることが認められている。これらの菌液について、雑菌試験により好気性、嫌気性細菌および真菌が陰性であることを確認した後、染色性の変化をみると、抗酸性を失った菌塊や短い菌体が、Nyka 酸化固定法により認められるが、石炭酸フクシンで染めた後塩酸アルコールの分別を行なわないと、コード形成をした菌塊の形骸が多数染まり、菌体は自己融解もせず長期に残存していることが示された。

走査型電顕による観察では、新しい菌がふくらみをもつた桿菌であるのに対し、長期低酸素状態においた菌では桿菌のまま flat になり、更に完全に ghoast 化したと

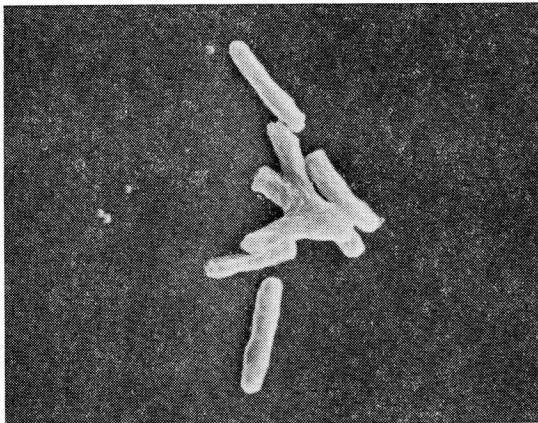


写真 1. 2 週培養の結核菌の走査電顕像. 10,000×

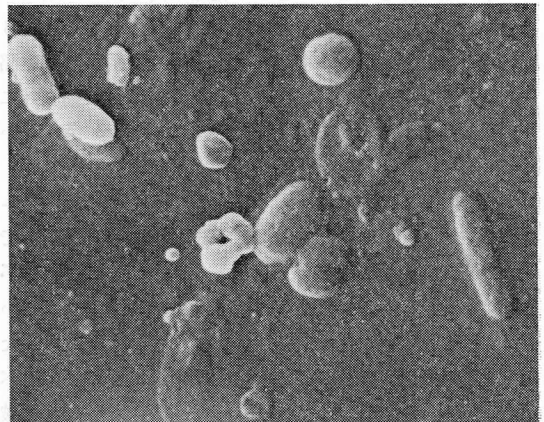


写真 2. 12 年低酸素 37°C においた結核菌の走査電顕像. 短い菌, ghoast 化した菌がみられる. 10,000×

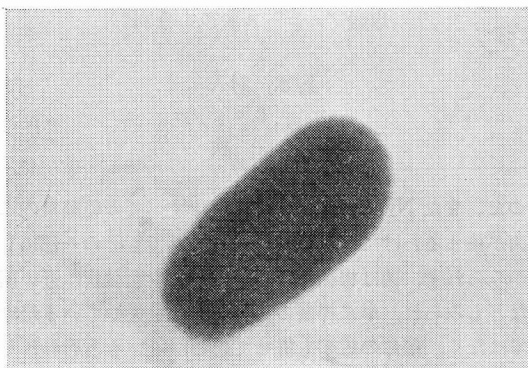


写真 3. 12 年低酸素 37°C においた結核菌の透過電顕像. 菌長の短縮と内部構造の濃縮がみられる.

50,000×

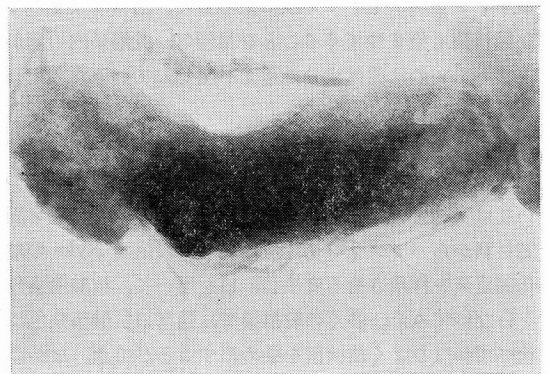


写真 4. 12 年低酸素 37°C においた結核菌の透過電顕像. 菌長はそのまま、内部構造の部分的淡明化がみられる ghoast 化の過程にある菌. 45,000×

思われるものなどがある一方、よくふくらんだ $0.7\ \mu\text{m}$ 前後の短い菌などもみられ、あるいは丸い形のものもみられた。なおX線マイクロアナライザーにより、ふくらんだ菌体に一致して、PとSの元素が有意の値で検出されてきたが、ghostと思われる菌体からは、PもSも検出できなかった。

透過型電顕による観察では、内部に大小の顆粒をもつ菌体は次第に短くなり、かつ内部の構造が消失して菌体全体の電子密度が極めて高くなり、菌体内部物質の濃縮が起こっているごとくに思われた。更に直径 $0.35\sim 0.7\ \mu\text{m}$ の円形でやや粗顆粒状の基質から成り、狭い電子透過性の高い膜に包まれた物体もみられたが、それと結核菌との関係は明らかでない。更に別の過程として、菌体内部物質の不均等化、淡明化があり、桿菌のまま不規則

に部分的に太くなつてその部の電子密度の低下があり、遂には菌体全体が明るく、その外辺もぼけてしまうのがみられ、走査型電顕で ghost 化したものに相当すると思われた。

以上から被包乾酪巢内の抗酸性を失った結核菌も、Nykaの酸化固定処理をすることでかなり抗酸性を回復でき、この方法が日常検査に組み入れられることが望まれる一方、菌長の短縮が抗酸性消失とともに起こっていることが改めて示された。*In vitro* で低酸素状態で最長12年 incubate した菌も同様の染色性と形態の変化を示したが、走査型および透過型電顕、更にはX線マイクロアナライザーの検索からも、菌体の短縮と内部物質の濃縮、一方では内部物質の喪失に伴う ghost 化がみられ、また直径 $0.35\ \mu\text{m}$ 程度の円形物質もみられた。

第51回総会シンポジウム

Ⅲ. 結核の悪化と再発

座長 杉山 浩太郎

九州大学医学部胸部疾患研究施設

受付 昭和51年11月12日

The 51th Annual Meeting Symposium

III. AGGRAVATION AND RELAPSE OF TUBERCULOSIS

Chairman: Kotaro SUGIYAMA (Research Institute for Disease of the Chest, Faculty of Medicine, Kyushu University)

Reporters: Teruo AOYAGI (Department of Internal Medicine, School of Medicine, Keio University)

Tatsunori SHIMIZU (3rd Department of Internal Medicine, Sapporo Medical College)

Kohei HARA (2nd Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Nagasaki University)

Kazuhiko KAMEDA (Osaka Prefectural Habikino Hospital)

Special Remarks: Masatoshi SHIOZAWA (Research Institute Sanatorium, Kekkaku Yobo Kai)

(Received for publication November 12, 1976)

With the recent advancement in the chemotherapy of tuberculosis, it became necessary to discuss whether the present definition of aggravation would be adequate or not. We have firstly discussed on this problem, and secondary, investigated how much the rate of relapse or aggravation being changed with the development of recent chemotherapy.

In the first investigation, changes occurred among patients with negative sputum at monthly interval over a period of three consecutive months and showing stability or improvement in chest X-ray findings were subjected to the analysis.

The following conclusions were derived.

a) Smear positive but culture negative status of sputum related not necessarily to an aggravation during the course of the disease in most of these patients.

b) The expansion of the shadows and/or the appearance of new shadows on roentgenogram were often recognized within six months after the initiation of chemotherapy, but most of these shadows were cleared up thereafter during the course of the same treatment. About 10% of the expanded shadows and about 50% of new shadows were found to be non-tuberculous inflammations. Based on these findings, it must be cautiously decided that whether these roentgenographic changes are tuberculous aggravations or not by taking into account the response of these changes to chemotherapy and bacteriological findings.

c) Cavitation alone without expansion of shadows did not indicate an aggravation under the effective treatment.

Concerning the second problem on changes in the rate of relapse in accordance with the

recent advances in chemotherapy, the following findings were obtained.

- a) The rate of the occurrence of bacteriological relapse has decreased with the introduction of recent intensive chemotherapy including RFP in both previously untreated and treated patients.
- b) Of patients who were treated initially with the intensive regimen including RFP for more than six months, and converted to negative sputum within the first three months after the initiation of treatment, continuous negative cultures were confirmed for 1 to 6.5 years after the discontinuation of chemotherapy.
- c) Resected specimens from patients with continuous negative sputum for at least six months by the treatment with SM, INH, RFP or SM, INH, EB, never showed positive cultures. These findings clearly show that the relapse of tuberculosis has been reduced by the recent intensive chemotherapy in comparison with the previous chemotherapy before the introduction of RFP and EB.

はじめに

Introduction

座長 杉山浩太郎

悪化と再発という問題が提起されたのは最近の化学療法の発達によつて、旧来細菌学的あるいはレ線学的悪化といわれていた現象が果たして悪化というに価するか否かに疑問が持たれたことによる。すなわち悪化の定義に関する問題である。本シンポジウムでは悪化をいう前提として、喀痰中結核菌が塗抹培養ともに陰性で、レ線所見には異常陰影の減少または不変のみがみられる状態が3カ月以上続いたのちに発生した変化を採り上げることとした。3カ月をとつたのは、6カ月をとるよりも多くの変化を検討でき、そのうえで悪化を見きわめうると考えたからである。

なお再発については、悪化の概念が明らかになれば再発は病気の経過とその期間を規定するのみで片づく部分が多いと思われるので、特に悪化と分離して取り扱うことはしなかつた。

さてここにいう悪化の問題とは、実は化学療法の発達が引き金となつて、結核症の治癒過程における人間と結核菌と薬剤との複雑な相互関係に変動が起こつたかどうかを悪化という土俵の中で議論しているにほかならない。例えば塗抹陽性培養陰性菌の排出は、化学療法がかなり強力となつてから目につくようになり、おそらく、培地上での増殖能力を失うほどに化学療法によつて弱められた、あるいは死んだ菌であろうとは、誰もが推測した。しかしながらこのようにしてやがて塗抹培養ともに陰性化した後にも悪化がかなりの頻度に見られたがために、このような菌の一時的排出を全く無害と断定することには躊躇された。あるいはこのような菌そのものは無害であつても、その背後にある病巣内の菌への危懼が残つたというべきであろう。しかし最近の RFP や EB を使用

した例ではこの悪化の数も減少したようにさえみえる。それゆえこの塗抹陽性(S.+)培養陰性(C.-)菌の排出は、その成りたちからもみられるように化学療法の強弱に依存的なものであるらしい。またそれならば化学療法の効果に影響する条件としての初回治療、再治療等の患者側の条件とも無関係ではあるまい。

更にいうならば、おそらく S.(+), C.(-) の菌は前述のごとく無害であろう。しかしその菌を排出した原病巣が受けた影響は化学療法の強弱に依存して異なるであろう。したがつて外に現れた排菌の S.(+), C.(-) 現象を背景の病巣から切り離し、“悪化”との関連においては同一価値の現象として取り扱つてよいか否かはこのシンポジウムの準備当初から議論の対象となつた。

おそらく現実的には S.(+), C.(-) 菌の排出は、この現象が起こつた時点においてはむしろ化学療法の効果として受け取つてもよいことが多いであろう。ただこの現象にその後の病巣の状態や動向にまでの責任を負わせることは、いまだ強弱種々の化学療法の行なわれている現在では無理であろうと思われる。したがつてこの現象が現段階で悪化とどのように結びつくか、あるいはむしろ結びつかないかを、丹念に調べる以外に方法はないと考えられた。

「レ」線陰影の変化については更に生体側の条件が多く加わるであろうし、結核以外の原因の影響もあるであろうが、悪化との結びつきは同様の方法で検討された。

なおこのシンポジウムでは更にもう一つの目的を持つた。すなわち、実際の悪化再発率が、最近の化学療法のもとでどのように変化したかを可能な範囲で明らかにしたいと考えた。

1. 治療方式ならびに背景因子より

1. Aggravation and Relapse of Tuberculosis Studied According to Therapeutic Regimen and Background Factors

慶応大学医学部内科 青 柳 昭 雄

肺結核症治療中の再排菌，X線の悪化がいかなる頻度に存するかを調査し，これらがどの程度真の結核症の悪化とされているかを治療法の変更あるいはその後排菌持続の有無などより推測し，また昭和40年に入院した症例の現状を調査した成績を報告した。

1. 対象症例：療研の成績では初回治療では昭和43年より45年に行なわれた SM・INH・PAS (EB₀)，SM・INH・PAS・EB₂ (EB₂)，SM・INH・PAS・EB₇ (EB₇) の3種類の化療術式の比較ならびにその2年間の追求成績と昭和49年より現在まで引き続き行なわれている SM・INH・RFP・EB と SM・INH・EB の12ヵ月までの治療成績，再治療では昭和44年より47年に行なわれた RFP・EB と RFP 準単独の3年目までの追求成績を利用させていただき，自験例は昭和41年より本院に入院した症例，遠隔調査は昭和40年に本院ならびに関連7施設に入院した症例である。

2. 研究成績：

1) 再排菌 再排菌の定義は塗抹，培養ともに3ヵ月間以上陰性持続後に陽性化したものとした。

①初回治療(表1)：塗抹のみ陽性例は療研の症例では18例(4.4%)，自験例では13例(3.8%)にみられた。このうち大半は6ヵ月以内の早期再排菌であり，胸部X線の悪化を示した症例はそれぞれ2例みられたが，治療法を変更せるものは気管支閉塞のため手術が行なわれた自験例の1例のみであつた。培養のみ陽性例はそれぞれ17例(4.1%)，7例(2.0%)であるがそのうち2例，4例は非定型抗酸菌であつた。したがつて結核菌の再排菌は15例，3例で治療法を変更したものは4例，0であつた。塗抹，培養とも再排菌せる症例はそれぞれ1例，2例存していた。治療法を変更せる症例は高率であつた。

再排菌の時期をみると塗抹のみは治療開始6ヵ月以内の早期に，塗抹，培養とも再排菌は6ヵ月以降に高率であつた。

②再治療(表2)：塗抹のみ再排菌例は RFP・EB 併用群7例(5.8%)，RFP 準単独群3例(3.0%)でその頻度は初回治療に比し大差はみられず，再排菌後陽性が持続した症例もみられなかつたが，6ヵ月以内の早期再排菌は初回治療に比し低率であつた。培養のみ再排菌の頻度

表1 再排菌 (初回治療)

対象 排菌	療研例 413例				自験例 345例			
	例数	6ヵ月以内の再排菌	X P 悪化	治療法変更	例数	6ヵ月以内の再排菌	X P 悪化	治療法変更
塗抹のみ	18 (4.4)	10	2	0	13 (3.8)	9	2	1
培養のみ	17[2] (4.1)	6	4	4	7[4] (2.0)	1	2	0
塗抹+培養	9[1] (2.2)	1	1	6	3[2] (0.87)	0	2	3

()は%，[]はAM症例数

表2 再排菌 (再治療)

対象 排菌	RFP+EB 121例				RFP 準単独 100例			
	例数	6ヵ月以内再排菌	X P 悪化	その後陽性持続	例数	6ヵ月以内再排菌	X P 悪化	その後陽性持続
塗抹のみ	7 (5.8)	1	1	0	3 (3.0)	0	1	0
培養のみ	5 (4.1)	0	0	2	6 (6.0)	0	1	3
塗抹+培養	11 (9.1)	0	4	11 [2]	15 (15.0)	4	2	15 [5]

()は%，[]は死亡例数

表3 胸部X線の悪化(初回治療)

術式 悪化の時期	6カ月まで毎月検査 209例				3カ月に1回検査 204例		
	EB ₀	EB ₂	EB ₇	計	SIE	SIER	計
～6カ月	4	6	8	18	4	9	13
6.1カ月～	6	3	1	10	1	1	2
計	10	9	9	28 (13.4)	5	10	15 (7.4)
治療法変更	6	3	0	9	2	0	2

()は%

表4 胸部X線の悪化(再治療)

術式 悪化の時期	RFP+EB (121例)	RFP 準単独 (100例)
～6カ月	5 [3]	5
6.1カ月～	8 [1]	17
計	13(10.7)	22(22.0)
その後菌陰性	[4]	0 [0]

()は%, []はその後菌陰性

表5 肺外結核の悪化, 死亡例 (自験例)

発現時期	肺外結核出現	死亡
～6カ月	4 { 包囊性胸膜炎 2 皮下膿瘍 1 側気管リンパ節腫脹 1 }	5 { 粟粒結核 3 肝硬変 1 胃癌 1 }
6カ月～	1 肘部膿瘍	1 0

死亡率 5/345=1.4%

も初回治療に比し大差はみられないが, 再排菌を契機に陽性が持続する症例が高率であつた。塗抹, 培養とも再排菌は RFP 準単独15%, RFP・EB 併用群9.1%で初回治療に比し明らかに高率であり, すべての症例はその後排菌陽性持続した。

2) 胸部X線の悪化 悪化の判定は学研の経過判定

基準によつた。

①初回治療(表3): 毎月検査された際は13.4%に悪化症例がみられ, その発現時期を治療法別にみると治療法が強力になるほど6カ月以内の早期悪化が高率で, この際はほとんどの症例が治療法を変更することなく順調な経過をとつた。自験例で NTA 病型別にX線悪化率をみると軽度2.8%, 中等度進展11.5%, 高度進展24.3%で病型別に有意の差がみられた。

悪化の型は療研, 自験例とも4a, 4bが高率であり, 4c, 4dのみのX線の変化はすべて6カ月以内の早期にみられ治療法を変更した症例は15例中2例のみであつた。

②再治療(表4): RFP・EB群では10.7%, RFP 準単独群では22%にX線の悪化がみられた。しかしながら初回治療と異なり6カ月以内の早期悪化は低率で, この際RFP・EB群では5例中3例が菌陰性化しているが, RFP 準単独では6カ月以内の悪化でも1例も菌陰性化していない。

3) 治療不成功例 初回治療にて培養陰性化に6カ月以上を要した症例は6例みられ, 表5のごとく死亡例は5例, 治療中に肺外結核が出現し外科療法を必要とした症例が5例みられた。再治療例では表6のごとくX線悪化した症例14例中7例は死亡し, X線の悪化がみられ

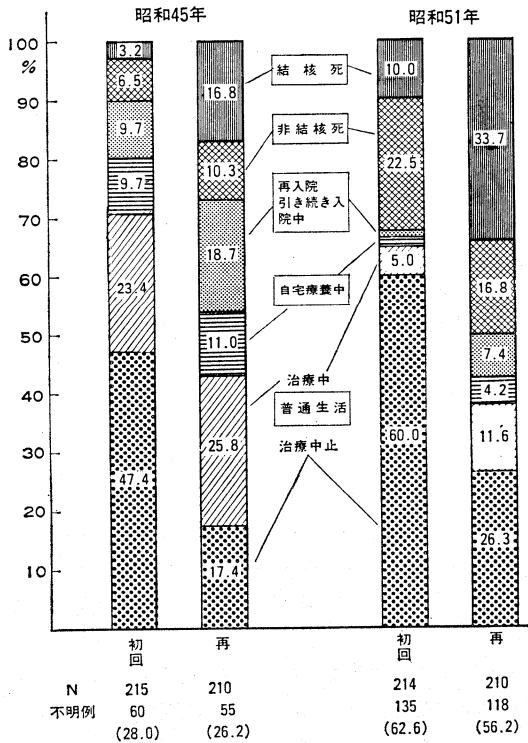
表6 X線悪化ならびに不成功例(再治療)

(自験例)

	X線悪化あり			X線悪化なし			計
	治療法変更		死亡	死亡	菌陰性化せず	肺外結核悪化	
	あり	なし					
46年以降	4a ope (5) AM.	洞4 (7)	4ab 洞4 (4年) 4ab emp (5年) 4ab 肺癌 (3)	咯血 (2) emp 悪化 (7)	1	膿胸 2 リンコリ 1	11/39 (28.2%)
45年以前	4c ope (5) 4a (12)	洞4 (11) 4a (2) 4a (1)	4ab (5) 4b (7) 4a 洞-4 (1) 4a (3)	Impetigo (6) 咯血 (4日) 喉頭癌 (8) 胃癌 (1) 衰弱死 (7日)	1		14/96 (14.6%)
計	3	4	7	7	2	3	26/135 (19.3%)

X線悪化: 14/135=10.4% 死亡: 14/135=10.4% 治療変更なし=4/14=28.6% (): 月数

図 昭和40年に入院せる患者の遠隔調査成績



なかつた症例でも12例が死亡し、再治療例の死亡率は19.3%と高率であつた。

昭和40年に入院した症例の昭和51年の遠隔成績をみると追求しえた症例は50%以下であつたが判明せる症例のうち33.7%は図のごとく結核で死亡していた。

2. Rifampicin 以前と以後について

2. Aggravation and Relaps of Tuberculosis before and after the Clinical Application of Rifampicin

札幌医大第3内科 清水辰典

結核の悪化と再発についての明確な定義は確立されていない。近年外科療法、化学療法の発達、社会環境の改善に伴つて結核症は激減したが、その発症は跡を絶たず、いわゆる悪化、再発という症例にもしばしば遭遇する。

このたびは Rifampicin (RFP) 以前と以後の悪化、再発の検討を命ぜられ、特に悪化を中心として検討を試みた。同一症例における比較は極めて困難であるため、若干のバイアスは生ずるが、他症例を対象とした。

対象

1. RFP 使用例

昭和46年より昭和50年までの5年間に、初回治療を除く排菌陽性患者を対象とし、RFP を6カ月以上使用し

3. 結論

1) 初回治療でも再治療でも塗抹のみの再排菌は真の悪化ではなく、6カ月以内に出現することが多い。塗抹、培養とも再排菌は大多数が治療法を変更あるいはその後菌陽性持続する。

培養のみ再排菌では初回治療では約1/4、再治療では約1/2が治療法を変更あるいはその後菌陽性持続した。

2) 胸部X線の悪化は治療法が強力になるにつれて6カ月以内の早期悪化が高率で、この際は治療法を変更することなく順調な経過をとることが多いが、再治療でRFP 単独治療の際はこの傾向はみられない。

3) 初回治療では1.4%、再治療では19.3%が死亡した。遠隔成績でも再治療症例の結核死亡は高率であつた。

4. 断案

以上のことより患者の診療に際し断面的に真の悪化か否かを推定するためには患者の背景因子、治療法より判定することが必要である。

(遠隔成績の調査に際して下記の施設の諸先生のご協力を得た。ここに厚くお礼申し上げます。)

〔協力施設〕

- 川崎市立井田病 (南波 明光)
- 国療東埼玉病 (綿引 定昭)
- 足利赤十字病 (吉沢 繁男)
- 佐野厚生病 (長谷川篤平)
- 飯田市立病 (源田 菊男)
- 慈生会病 (荻原 宏治)
- 稲城市立病 (鈴木 博)

た患者で、脱落例を除く355例である。なお、この調査研究資料は北海道結核化学療法研究会によるものである。このうち、排菌陰性化をみたものは195例(54.9%)、また6カ月以上の菌陰性期間後の再排菌例は40例(20.5%)であつた。この40例の排菌の内訳は塗抹のみ陽性9例、培養のみ陽性25例、塗抹、培養ともに陽性は6例であつた。この40例中再陰性化をみたものは27例、残り13例が陽性を持続した。また菌陰性期間を3カ月以上にとつた場合、陰性化は213例、再排菌は58例(27.2%)であつた。以上について再排菌因子を検討したが、性、年齢、発病よりの期間およびレ線病変については特別な要因はみられなかつた。

2. RFP 未使用例

昭和35年より45年に至る10年間に、国療札幌南病院を退院した患者で、入院時排菌陽性例を対象とした。当時は手術療法が盛んに行なわれた時代なので、手術の影響を受けない患者を選択した。

対象患者数は男子 234 例、女子 133 例の計 367 例である。これらの患者を初回治療と再治療に分け、菌陽性持続、菌陽性持続でレ線悪化、再排菌、菌陰性期間 3 カ月、4 ~ 5 カ月および 6 カ月以上、死亡および菌陰性化と分けて検討した。初回治療は 208 例 (56.6%)、再治療は 159 例 (43.3%) である。全症例数を母数として割合をみると、初回治療例の菌陰性化は 98 例 (26.7%)、再治療例では 22 例 (5.9%) であつた。死亡例についてみると初回治療例は 28 例 (7.6%)、再治療例では 58 例 (15.8%) であつた。各項目別の割合をみたが、菌陽性持続例、死亡例とも再治療例に多く、菌陰性化例は初回治療例に多かつた。

入院中菌持続陽性例中死亡を除くレ線の悪化例はわずか 16 例にすぎず、レ線の悪化は意外に少ないことがわかつた。

菌の陰性化と再排菌では、菌陰性期間を 3 カ月、4 ~ 5 カ月および 6 カ月以上として検討した。この際若干のバイアスは生じるが、母数はすべて 3 カ月陰性のものを使用した。陰性期間 3 カ月では 36 例 (15.7%)、4 ~ 5 カ月では 29 例 (12.7%)、6 カ月以上は 39 例 (17.1%) であり、陰性化 228 例中 104 例 (45.6%) が再排菌している。初回治療の再排菌は陰性化 160 例中 60 例 (37.5%) であり、再治療の再排菌例は陰性化 68 例中 44 例 (64.7%) と初回治療に比べ高率であつた。

再排菌を塗抹のみ陽性、培養のみ陽性および両者とも陽性に分けると、初回治療例での再排菌は塗抹も培養もみられるが、再治療例での再排菌は、菌陰性期間が長い後の再排菌は培養陽性が多く、全体としてみても再排菌は培養陽性例が多かつた。厳密な意味での比較にはならないが、RFP 使用例と未使用例について再排菌を比較すると、菌陰性期間を 6 カ月未満とそれ以上に分けた場合、RFP 未使用の再治療例では 6 カ月未満が 32 例 (47.0%)、6 カ月以上が 12 例 (17.6%)、この計は 44 例 (64.7%)

である。RFP 使用例では 6 カ月未満が 18 例 (8.4%)、6 カ月以上は 40 例 (18.7%) で、その計は 58 例 (27.2%) にすぎない。RFP 以前の初回治療例では 6 カ月未満が 33 例 (20.6%)、6 カ月以上は 27 例 (16.8%)、この計は 60 例 (37.5%) で、このことおよび菌の陰性化率をみても RFP 使用例が未使用の初回治療例、治療例よりもすぐれた成績を示している。

悪化の一つに死亡があげられるが、死亡例は 367 例中 86 例 (23.4%) で、このうち菌陰性化例はわずか 4 例にすぎない。RFP 使用例では 385 例中 30 例で 7.7% であり、これには初回治療例は含まれていないので死亡率は非常に低率である。

RFP 未使用例の死因を分析してみると、レ線悪化 34 例 (39.5%)、肺性心 16 例 (18.6%)、咯血 13 例 (15.0%)、感染 15 例 (17.4%) および気胸 1 例で計 79 例 (91.8%) となり、呼吸器以外の原因による死亡は 7 例 (8%) にすぎない。咯血死が 13 例 (15%) もみられるのは当時の悲惨さを想像するに難くない。X 線の悪化、肺性心による死亡といつても、これに感染が加わつていたことは否定しえない。

菌陰性化例についてみると、初回治療例に多く、これらは年齢も若く在院月数も他に比べ短期間であつた。

悪化の一つの要因に持続的排菌があげられる。死亡 86 例中菌陰性化例はわずか 4 例にすぎず、この持続的排菌は再治療例に多く、このことは初回治療の不徹底によるものと考えられる。すなわち、使用薬剤の質的、量的不徹底がこのような結果をもたらしたものであろう。

以上 RFP 以前と以後の悪化と再発について特に悪化を中心に検討を試みたが、RFP 使用後の悪化は少なく、RFP の出現により結核治療の考え方に大きな変化が生じたといえよう。

終わりに、機会を与えられた座長の杉山教授、本資料作成に際し、終始ご助言ご協力を賜つた国療札幌南病院院長近藤博士、同副院長久世博士、同医局の諸先生および職員の皆様方、また北海道結核化学療法研究会の諸先生に厚くお礼申し上げます。

表 RFP 以前と RFP 使用例

(死亡例を含む)

		RFP 以前の 再治療例	再治療に RFP 使用例	RFP 以前の 初回治療例
再 排 菌	陰性持続期間 3 カ月	19	32 (27.9)	17
	4 ~ 5 カ月	13		33 (20.6)
	6 カ月以上	12	18 (8.4)	16 (10.0)
	小計	44 (64.7)	40 (18.7)	27 (16.8)
菌陰性化		24 (35.3)	155 (72.7)	100 (62.5)
計		68	213	160

()は%

3. 特に新陰影の出現を中心として

3. Aggravation and Relaps of Pulmonary Tuberculosis:

A Survey, Focused on the Significance of Roentgenologically Newly Appeared Lesions

長崎大学医学部第2内科 原 耕 平

目的および方法

近年抗結核剤および外科療法の進歩によつて肺結核の予後は極めて向上したが、一方では治療中の悪化や中断による再発といった例もかなりの数みられるようである。しかしながら、われわれはこれらの悪化、再発といった言葉について、明確な定義はもっていないようである。

今回われわれは、長崎と佐賀両県下の9施設での患者を対象として、悪化、再発の症例を、主として新陰影の出現の面より眺め、結核による悪化と一般細菌の感染による陰影出現との鑑別を中心に検討を加えてみた。

研究成績

長崎、佐賀両県下の9施設で、昭和45年1月より昭和51年3月まで入院中の患者1,024名を対象とした。表に示したごとく、新陰影の出現をみたものは70例(6.8%)で、その内訳は、陰影増大(4a)24、新陰影出現(4b)27、透亮化(4c)16、胸水出現(4d)3例であつた。また、菌陰性を3カ月以上持続した後に再排菌をみたものは32例で、このうちX線学的な変化を伴わないものは14例あつた。再排菌をみたものの内訳は、塗抹陰性・培養陽性11例、塗抹陽性・培養陽性16例、塗抹陽性・培養陰性5例であつた。新陰影の出現をみたものと再排菌をみたものとを合計した、いわゆる再発・悪化例の合計は84例(8.2%)で、これらは10~60歳代にわたり男女差はなかつた。

陰影の増大をみた24例中2例と新陰影の出現をみた27例中14例は、最終的に一般細菌の感染による陰影の出現

ないしは増大と考えられた。これら16例はいずれも、結核化学療法中、38℃以上の高熱(75%)と咳嗽、喀痰などの臨床症状を伴い、白血球の増加と左方推移、CRP、血沈、ムコ蛋白などの著明な上昇を認めたが、これらの陰影はすべて2カ月以内に消失したことから、結核における陰影出現の際、一応化膿菌による炎症性病変との鑑別には2カ月目を目標としていくのがよいことを思わせた。結核による新陰影の出現例(4b)よりも、一般細菌による感染症例では、%VCは低値を示す傾向にあり、低肺機能者に化膿性炎症が加わりやすいことを示唆した。喀痰中の起炎菌は、2例に大腸菌、2例に緑膿菌、1例にブドウ球菌が検出されたが、その他は菌が検出されなかつた。

経過中に空洞化したものは16例あつたが(表参照のこと)、陰影の増大や再排菌を伴わない“いわゆる単なる洞化”は7例で、残りの9例は陰影の増大とともに再排菌を伴つていた。この単なる洞化7例中5例は初回治療であつた。単なる洞化では、治療開始より比較的早期に洞化が起こり、そのほとんどが菌陰性で、特別な抗結核剤の変更なしに6カ月以内に、4例は中等度以上の、2例は軽度の改善をみた。これに対し、陰影の増大や再排菌を伴つた9例では、そのほとんどが1年以上経過して洞化が起こつていた。ほとんどの例で抗結核剤の変更がなされていたが、6カ月以内では中等度以上の改善がなく、4例が軽度改善、3例は不変、2例は更に悪化していた。

再排菌をみた32例についてみると、再排菌のみの14例中12例(85.7%)は3カ月以内で陰性化した。新陰影の

表 新陰影の出現をみた例(70例)

		初回、再 治療の別	症 例	結核菌 陰性	結核菌 陽性	持続 排菌例
陰影の増大(4a)	初		5	4 (1)	1	0
	再		19	8 (1)	6	5
新陰影出現(4b)	初		10	10 (2)	0	0
	再		17	13(12)	4	0
透 亮 化 (4c)	単なる 洞化	初	5	5	0	0
		再	2	2	0	0
	透亮化+ 陰影増大	初	1	0	1	0
		再	8	0	6	2
胸水出現 (4d)	初	3	3	0	0	

()内は一般細菌による感染と考えられた例。

出現または増大を伴ったものでは、18例中10例(55.6%)が3カ月以内に陰性化していた。それぞれ2例と7例の持続排菌化の症例がみられたが、これらはいずれも塗抹、培養ともに陽性のものであつた。

塗抹陰性、培養陽性でコロニー数22以下であつた微量排菌例は8例であつたが、6例は1カ月目で陰性化し、1例は3カ月目で陰性化した。しかし最初8コロニー検出された例で、2カ月目、3カ月目は陰性であつたが、4カ月目より排菌が持続する例もあつた。

塗抹陽性・培養陰性は5例であつたが、3例は1カ月目以後は排菌なく、1例は2カ月目より陰性となつた。残り1例は1カ月目より陰性であつたが、10カ月、11カ月目にそれぞれガフキー5号の再排菌があり、現在追跡中である。

これら再発・悪化をみた84例中、明らかに結核性の再発と判明された6例について、再発時点における体液性および細胞性免疫能を検べてみたが著変を認めなかつた。

結 論

- 1) 対象1,024例の肺結核患者中新陰影の出現した例

は70例(6.8%)で、再排菌例は32例(3.1%)であつた。

2) 新陰影の出現した70例中、一般細菌による肺感染と思われる例は16例(22.8%)で、いわゆるシェーブ形式(4b)を呈したものがほとんどであつた。また発病よりかなり経つたものが多く、%VCの低いものが多かつた。結核の悪化と比べて、発病時高熱(38°C以上)を呈するものが多く、白血球数、血沈、CRPの異常を示すものが多かつた。

3) いわゆる単なる洞化を呈した7例の経過は比較的良好であつたが、これに反して、透亮化+陰影の増悪を示した群では経過がよくなかつた。

4) 微量排菌1回だけの例の経過は、その後排菌しないものが多かつたが、排菌する例もみられ、このような例の経過は慎重に追うべきと思われた。

5) 再発例中の6例について、再発時の体液性および細胞性免疫を検べたが著変をみなかつた。

6) 以上のような結果から、現行の学研分類判定基準のごとく、1回だけの排菌あるいは新陰影の出現をもつて直ちに悪化とするには問題があり、悪化という判定には慎重であらねばならぬことを感じさせた。

4. 患者管理の立場から

4. Aggravation and Relaps of Tuberculosis: From a Viewpoint for Management of Patients

大阪府立羽曳野病院 亀 田 和 彦

演者は、冒頭に肺結核の悪化を論ずる場合、悪化の定義を決めることが先決であることを述べ、その一つとして喀痰中結核菌が塗抹、培養とも3カ月以上陰性が持続し、X線上に悪化がなければ、塗抹陽性・培養陰性菌が連続2回まで、あるいは20 colonies以下の培養陽性菌が1回だけ証明されても、臨床的にはそれほど重大な意味はないこと、および排菌を伴わないで2カ月以内に著明改善するX線上の陰影の出現、および結核腫の大きさ不変および縮小する洞化は、悪化と考へなくてよいことを述べた。

その根拠として、再陽転時の排菌量と排菌回数をみた表1、切除例を用いて術前の排菌回数別、排菌量別、薬剤変更の有無別、X線上悪化の有無別を組み合わせた各群の病巣培養成績をみた表2、初回、再治療における菌陽転例の菌量別予後をみた表3、X線上悪化陰影の排菌有無別の予後を示した表4、結核腫の拡大洞化と縮小洞化の洞内結核菌培養陽性率を比較した表5を示し、一つ一つの検討資料では完全な結論を出すにいたらずとも、このようないろいろな角度から眺めてみると、上記の現象は少なくとも臨床的には重大な意味がないといえるの

でないかとした。

次いで今回は、患者管理の立場から、肺結核が悪化する場合、患者はどのような症状を示すのかを検討するとともに、それらの悪化患者が保健所に登録中であつたかどうか、また、どこで発見されたかを調べ、現行の患者管理のあり方に検討すべき余地がないかを検討した。研究対象は、昭和50年3月から51年2月までに肺結核の悪化と診断されて入院した症例150で(表6)、細菌学的悪化と、X線学的悪化を加味したgradingによつて組み分けし、咳、痰、血痰・咯血、発熱、胸痛、やせなどの

表1 再陽転時の排菌量と排菌回数

排菌回数	塗(+) 培(-), あるいは 培(+) \sim 20 col.	培(+) 20 col. \sim 卄, 卅
1	12	9
2	0	10
3	2	15
?	0	2
計	14	36

表2 菌陰性持続後、術前3ヵ月以内に再陽転した例の排菌の量別、回数別、
レ線上悪化の有無別にみた切除肺病巣内結核菌培養成績

排菌量	塗(+) 培(-)			培(+~20)			培(+21~卅)		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
排菌回数	ありなし	ありなし	ありなし	ありなし	ありなし	ありなし	ありなし	ありなし	ありなし
薬剤変更	ありなし	ありなし	ありなし	ありなし	ありなし	ありなし	ありなし	ありなし	ありなし
レ線悪化	あり	1/1	1/1	2/2 1/1			1/1 2/2	1/1 2/2	4/4
	なし	0/2 0/23	0/5 0/5	1/1	0/1 0/3	0/1	1/1	0/1	0/1

分母は培養病巣数、分子はそのうちの培養陽性数。

表3 初回治療・再治療における菌陽転化例の菌量別予後

陽転菌量	初回治療 927					再治療 565				
	No.	処方変更なし		処方変更あり		No.	処方変更なし		処方変更あり	
		陰性化	陽性持続	陰性化	陽性持続		陰性化	陽性持続	陰性化	陽性持続
塗抹(+) 培養(-)	45 (100)	41 (91.1)	0	4 (8.9)	0	29 (100)	23 (79.3)	0	6 (20.7)	0
培養(+)-20 col.	19 (100)	17 (89.5)	0	2 (10.5)	0	27 (100)	18 (66.7)	0	8 (29.6)	1 (3.7)
培養(+)-21~卅	15 (100)	6 (40.0)	0	6 (40.0)	3 (20.0)	13 (100)	0	6 (46.1)	5 (38.5)	2 (15.4)

表4 X線上悪化陰影の排菌の有無別予後
(学研判定基準による著明改善までに要した期間)

改善に要した期間	排菌を伴わない悪化	排菌を伴う悪化
1ヵ月	4	0
2	8	1
3	3	2
4	5	16
改善せず	12	18
悪化	1	5
不詳	2	5

表5 洞化乾酪巣の病巣培養成績

菌陰性期間	培養陽性	培養陰性
0	8/8	0/1
1ヵ月~	6/7	0/2
3 ~	4/4	0/2
6 ~	2/2	0/5
9 ~	1/1	1/2
12 ~	—	0/5
	21/22 (95.5)	1/17 (5.9)

分母：培養病巣数
分子：そのうちの病巣内結核菌培養陽性数

に述べた臨床的に重大な意味をもたないとする悪化例では、気管支喘息合併の感染症を起こした1例を除いては、全例無症状であつたことを述べた。

これらの悪化例のうち、大阪府下在住の62について、所轄保健所に登録の有無、および悪化発見の場所をみたのが表8であり、悪化例は治療の不規則、放置例に多く、全体として悪化発見は、自覚症出現のために開業医を訪れて発見されているものが、きわめて高率であつたことを示した。また、大阪府下保健所の昭和49~50年の管理

表6 今回の研究対象の性・年齢構成

年齢	男	女	計
~19歳	3	2	5 (3.3)
20 ~	11	12	23 (15.3)
30 ~	25	9	34 (22.7)
40 ~	36	8	44 (29.3)
50 ~	17	5	22 (14.7)
60歳~	16	6	22 (14.7)
計	108 (72.0)	42 (28.0)	150 (100)

発現率をみた(表7)。すなわち、症状出現頻度は悪化の程度により明らかに差があり、特に排菌量の多い感染性のものは症状が多く、これらは重大な悪化であり、冒頭

表 7 悪化の程度別の症状出現頻度

悪化の程度	症 状 No.	咳 2W~		痰 2W~		血痰・咯血		発熱 38°~・3日~		胸 痛		や せ (自・他認)	
		+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
塗(+) 培(+21~卅) X線悪化(+)	112 (100)	90 (80.4)	22	87 (77.7)	25	37 (33.0)	75	47 (42.0)	65	29 (25.9)	83	81 (72.3)	31
塗(+) 培(-) 培(+~20) X線悪化(+)	27 (100)	9 (33.3)	18	9 (33.3)	18	11 (40.7)	16	9 (33.3)	18	7 (25.9)	20	8 (29.6)	19
塗(+) 培(-) 培(+~20) X線悪化(-)	11	1	10	1	10	1	10	1	10	1	11	1	10

表 8 悪化時の患者登録の有無と発見場所
(大阪府下在住の悪化例 62 について)

悪化時	登録あり 40	要医療 観察	不規則治療 放置	発見場所	
				保健所	開業医 集検
悪化時	なし 22		21	1	20
			12	3	9
		7		3	4
	62 (100)			7 (11.3)	53 (85.5) 2 (3.2)

検診の結果について7保健所での成績を示し、管理検診で要医療とされたものの約80%は、治療中B、Cの区分下の治療不規則例、放置例で、残る20%が不活動性の状態の観察中のものであつたことをつけ加えた。

以上のことから、①呼吸器症状の出現状況は、悪化の程度、ことに排菌量の多寡を示し、悪化患者の発見に大きい拠り所となること、②患者管理の重点は、治療終了後の患者の follow-up よりも、治療中の患者の治療からの脱落防止に注がれるべきこと、および③有症状時の受診のすすめを徹底指導すべきこと、を強調した。

5. 特別発言：肺結核悪化の枠決めとその grading ならびに学研肺結核病状経過判定基準の悪化に対する批判

5. Special Remarks: Restriction on the Extent of Concept of Aggravation in Pulmonary Tuberculosis with a Proposal for Grading of Aggravations and a Critical View to the Definition of Aggravation in Gakken Standard for Evaluation of Course of Pulmonary Tuberculosis

結核予防会結核研究所附属療養所 塩 沢 正 俊

各 symposist の発表によると、悪化の取り決めがかなりまちまちであり、学研肺結核病状経過判定基準（以下学研判定基準）によつている symposist もいる。しかし化学療法が進歩した現在、学研判定基準は現状にそぐわない点を多々含んでいるように考えられる。そこで、肺結核悪化の枠決めとその grading にふれたのち、学研判定基準に若干の批判を加えてみたいと思う。

肺結核悪化の枠決めとその grading は根本において亀田の見解に賛成するものである。肺結核の悪化を、咯痰中の結核菌陰性化後3ヵ月以上経過した症例で、排菌量の如何を問わず培養陽性の結核菌を咯出した場合、もし

くは咯痰中の結核菌は培養陰性であるが、結核菌によつてひき起こされたと考えられる陰影の増大、新陰影の出現などX線学的変化がみられた場合と規定する。

次いで化学療法による結核菌再陰性化の可能性、X線学的変化制御の可能性などから、悪化の程度に重みをつけ、minor aggravation, moderate aggravation, major aggravation に区分けし、使用目的によつてそれを使い分けるがよいと考える。Minor aggravation とは同一処方でも対処可能と判断されるもので、1~2回の微量排菌例あるいは2~3ヵ月以内に制御しえない咯痰中結核菌培養陰性のX線学的変化例とする。Major aggravation

表1 SM・INH・RFP 使用例の菌陰性化パターン

前	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Ⅶ +++	Ⅳ + ₁₅	Ⅴ + ₆₀	Ⅲ —	Ⅵ —	Ⅲ —	Ⅳ —	— —	Ⅰ —	Ⅲ —	Ⅲ —	Ⅱ —	Ⅱ —
Ⅶ +++	Ⅳ +++	Ⅲ —	Ⅲ —	— —	Ⅰ —	Ⅲ —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
Ⅶ +++	Ⅳ +++	Ⅳ —	Ⅲ —	— —	Ⅰ —	Ⅲ —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
Ⅶ +++	Ⅳ #	Ⅳ + ₆₀	Ⅲ —	Ⅵ —	Ⅲ —	Ⅳ —	— —	Ⅱ —	Ⅱ —	Ⅱ —	— —	— —
Ⅷ +++	Ⅴ +++	Ⅴ +++	Ⅳ —	Ⅳ —	— —	Ⅲ —	— —	— —	Ⅰ —	— —	Op	
X +++	Ⅴ —	Ⅱ —	Ⅳ —	Ⅱ —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
Ⅶ +++	— —	— —	— —	Ⅱ —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
Ⅲ + ₁₉	Ⅳ —	Ⅰ —	Ⅱ —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
Ⅶ +++	Ⅰ —	Ⅲ —	— —	Ⅱ —	— —	— —	— —	— —	— —	— —		
Ⅴ +++	Ⅳ #	Ⅱ + ₃₁	— —	Ⅱ —	— —	— —	— —	— —	— —			
Ⅲ +++	— + ₁₉	— + ₃	Ⅰ + ₁₁	Ⅲ —	— —	Ⅳ —	— —	— —	— —			
Ⅰ #	— —	Ⅰ —	Ⅲ —	Ⅳ —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
Ⅷ +++	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	Ⅱ —
Ⅶ +++	Ⅴ +++	Ⅱ —	— —	— —	Ⅲ —	Op						
Ⅶ +++	— + ₅	Ⅳ —	Ⅴ —	Ⅳ —	Ⅵ —	Ⅲ —	— —	— —	— —	— —	— —	Ⅱ —

とは2種以上の感性 major drugs でも制御不能と判断されるもので、これらには多量排菌例または排菌の著明増加例を入れる。Moderate aggravation は minor, major aggravation 以外のものとする。

次に学研経過判定における悪化をとりあげる。喀痰中結核菌の塗抹陽性の項では、4a 増加, 4b 陽性化を悪化としているが、これには多くの疑問がある。例えば SM・INH・RFP 治療(52例)による菌陰性化の pattern をみると、治療開始後4カ月目には培養陰性化率が100%に達するのに、塗抹陰性化率は12カ月後でも100%に達せず、95~97%のところをうろちよろしている。個々の症例で追及してみると、表1のごとく、塗抹陽性・培養陰性菌の喀出は連続的にあるいは間欠的にかんりの頻度で見られ、12カ月後でさえも散見される。ちよつと見方を

表2 切除肺病巣内結核菌培養陰性例のなかで占める塗抹陽性例の比率

症例区分		塗抹陽性培養陰性		塗抹陰性培養陰性	
空洞例	菌陰性1~5カ月	40/120	33.3%	80/120	66.7%
	菌陰性6カ月以上	89/208	42.8	119/208	57.2
非空洞例	菌陰性1~5カ月	11/47	23.4	36/47	76.6
	菌陰性6カ月以上	37/69	53.6	32/69	46.4
菌陰性空洞例	SM・INH・EB, SM・INH・RFP	17/30	56.7	13/30	43.3
	SM・INH・PAS	37/81	45.7	44/81	54.3
	RFP 加薬剤変更	17/42	40.5	25/42	59.5
	RFP 除薬剤変更	21/67	31.3	46/67	68.7

変えてみると、切除肺病巣内結核菌培養陰性例のなかで塗抹陽性例の占める割合は、表2のごとく、空洞例非空洞例の如何を問わず相当高く、菌陰性期間6ヵ月以上の空洞例では42.8%、非空洞例では53.6%に及んでいる。この比率はまた化学療法方式によつても影響を受けるようである。SM・INH・EB, SM・INH・RFPなど強化療法では56.7%に達するのに、化療が弱まるにつれて低率となり、RFPを含まない薬剤変更例では31.3%にすぎない。そのうえ、細菌学者のたゆまざる研究努力にもかかわらず、塗抹陽性・培養陰性菌が「生きている菌」であるとの実証はいまだに得られていない。したがって、現在のところ、臨床的にはかかる菌の喀出例を塗抹陰性・培養陰性例と同等に取り扱つてさしつかえないと考える。かかる理由から、塗抹の項は削除したい。

次は胸部X線像のC基本病型である。4悪化は「全陰影が増加し、かつ4a, 4b, 4c, 4dの現象がみられた場合と解すべきであるが、これを正しく運用していないのではないかと危惧している。なぜならば、「全陰影が増加した場合」との条件を無視していることが少なくないと思われるからである。ともあれ、透亮化、新陰影出現、陰影増大を取り上げて検討する。

透亮化の運命を追跡してみる。透亮化の時期をみると、化療開始後3ヵ月以内例が26.7%、6ヵ月以内例が31.1%、9ヵ月以内例が20.0%、12ヵ月以内例が6.7%、12ヵ月以上例が15.5%を占め、早期の透亮化例も少なくない。透亮化時の病巣は径2cm以内53.3%、2.1~3cm46.7%に区分される。しかもこれら症例はいずれも透亮化時あるいはその直後にX線所見上で新陰影出現、影陰増大を示さず、喀痰中の結核菌はすべて培養陰性である。透亮化直後に切除した肺内病巣(6例)の結核菌はいずれも培養陰性であり、うち5例は塗抹陽性である。なお透亮化後6ヵ月以上の経過を追及しえた39例の予後を見ると、濃縮空洞化48.7%、充塞空洞化20.5%、薄壁空洞化23.1%、他空洞7.7%となる。かかる事実から、化療下の透亮化は病巣の化療に対するよい反応の表現と判断し

たいのである。したがって、透亮化は悪化から除くことが望ましいと考える。亀田、原は透亮化を単なる透亮化と増大透亮化に分け、前者を悪化とする必要はないが、後者は悪化とするとの考えである。しかし増大透亮化は多くの場合、陰影の増大、次いで透亮化の過程を迎るので、かかる症例は陰影の増大でチェックすることにし、透亮化は一様に悪化の所見でないという方がよい。

4a 陰影増大, 4b 新陰影出現の取り扱いには亀田、原の提案に従いたい。

ここで化療の強度とX線病型別の切除肺病巣内結核菌培養陽性率との関係を菌陰性空洞例で検討してみる。SM・INH・PAS 治療例ではKa, Kd型で14.3%, Kx型で2.3%, Ky, Kz型で6.7%を示し、RFPを含まない薬剤変更例ではKa, Kd型で31.8%, Kx型で12.8%, Ky, Kz型で14.3%となり、程度の差こそあれ、どんな病型の空洞でも結核菌は培養陽性である。しかるにSM・INH・EBあるいはRFPを含んだ治療例ではどの病型の空洞からも培養陽性の結核菌は検出されない。こうなると、今後の治療における悪化判定や治癒判定にはX線学的所見よりも細菌学的所見をより重要視せねばならないことになる。それだけに排菌を伴わないX線学的悪化をみた場合、それが結核性の悪化か否かの判断にますます苦しむことになる。したがって、両者の鑑別方法を開拓することは極めて重要かつ緊急の課題といえる。

いま述べた化療の強度と切除肺病巣内の結核菌培養陽性率との関係は、肺結核悪化防止の一方策を示唆しているとも考えられる。なぜならば、SM・INH・PASまたはRFPを含まない薬剤変更で成立した菌陰性空洞例や非空洞病巣例に6ヵ月ぐらゐRFPを加えた治療を施せば、すべての病巣内の結核菌は培養陰性になり、したがって肺結核の悪化は起こらないとの推測が成り立つからである。

学研判定基準には悪化のほかにも現状にそぐわないところが多々みられるので、本基準の早期改訂へ向かつて検討されんことをこの機会に強く要望する次第である。

総括および結論

Summary and Conclusion

座長 杉山 浩太郎

1. 再排菌について

亀田は悪化と考えないものの範囲を決め、その中で、塗抹のみ陽性の菌の2回までの出現、1回のコロニー20以下培養陽性所見は悪化とせず、更にそれ以上の出現回数または集落数をみたときに悪化とする見解を述べ、かつこの基準はX線悪化の有無と組み合わせると一般結

核管理の場において、結核の悪化再発例の悪化時の症状の程度とも一致することを述べ、塩沢は亀田の悪化のとりきめに賛意を表した。一方、青柳は経過の一断面において悪化を推定するには治療法や背景因子を考慮すべきことを主張したが、塗抹のみ陽性の場合には真の悪化でないことが多いことを述べ、原もほぼ同様の所見を示し

た。

すなわち、塗抹のみ陽性を直ちに悪化とは考えないという点において一致をみた。なお塩沢はもし C. (-) のとき S. (+) も S. (-) も同意義であるならば、学研経過判定基準中塗抹の項を削除すべしと主張した。

なお青柳はこのような塗抹のみ陽性の菌は、化学療法開始後6ヵ月以内に出現頻度が高いと述べ、塩沢も SM・INH・RFP 使用例において同様の所見を示した。

なお培養陽性微量排菌については、のちに継続陽性となる例もあり(原)、その取扱い区分については一致した意見はみられなかつた。

2. レ線写真上の悪化について

亀田は排菌を伴わないで2ヵ月以内で著明に改善する X線陰影の出現は悪化と考えないと述べ、青柳は初回治療においては化学療法が強力であるほど6ヵ月以内の早期悪化(学研基準の4a~dの各型として)が増加するが、このうち殆んど全部の症例は治療法を変更することなく順調な経過をとると述べた。また原は学研レ線悪化4a 24例中2例、4b 27例中16例は一般急性炎症症状を呈し、陰影はすべて2ヵ月以内に消失したという。

すなわち、出現した陰影増強が結核の悪化によるか否かは、排菌、悪化の時期、結核以外の炎症等を慎重に考慮して決定すべきである。

洞化または透亮化については、原は陰影増強を伴わない“単なる洞化”は、薬剤変更を行なわなくても良好な経過をとるゆえ悪化とは考え難いとし、亀田も結核腫の大きさ不変または縮小に伴う洞化を悪化にあらずと考え、また青柳は透亮化および胸膜炎併発はすべて6ヵ月以内の早期に起こり、治療法を変更したものは15例中2例に過ぎなかつたという。また塩沢は、かかる透亮化直後に切除した病巣よりの結核菌培養はすべて陰性、また透亮化のみを示すものの6ヵ月以上の経過はすべて病巣治療に向かうゆえに、化学療法に対する良好な反応と解すべきであるという。また塩沢は学研経過判定基準の X線像の判定において、4は全陰影の増加した場合であり、4cはそのときの透亮化であるから、“単なる透亮化”なる概念は当初から悪化にはなく、また陰影増強を伴う透亮化は病巣影増大(4a)で処理すればよく、したがって透亮化の項は削除すべしという。

すなわち強力な化学療法下においては、病巣陰影の増加を伴わない透亮化を悪化とする必要は殆んどないと考えられる。

3. 最近の化学療法後の悪化再発について

清水は RFP 以前の再治療例の再排菌率は64.7%、RFP 使用再治療例のそれは27.2%でかなりの減少がみられることを示した。座長から発言を求めた伊藤文雄氏

(阪大)は、RFP 主体の治療を6ヵ月以上行なつた症例のうち、治療開始後6ヵ月の時点には少なくとも3ヵ月以上排菌陰性で、RFP 投与を中止した後6ヵ月以上経過を観察しえた症例においてその後の排菌の推移を追跡したところ、次の成績を得たという。60歳以上の高齢者15例を含み、B型有空洞例を主とする62例の初回治療例では、1~6.5年の観察期間中に再排菌は0であつた。再継続治療323例からの life table 法による累積悪化率では、6.5年の観察期間に22.8%の再陽転がみられた。すなわち初回治療例では特に、また再治療例でも悪化率は従来の化学療法に比して減少していた。

また塩沢は排菌陰性期間6ヵ月以上ののち、切除した肺病巣の培養所見において、SM・INH・PAS 治療例、および RFP を含まない薬剤に変更した例では、各空洞型を総合してそれぞれ6.9%および18.2%の陽性率であつた。これに反して SM・INH・EB、SM・INH・RFP では共に陰性(0%)、RFP を含む薬剤の併用に変更した例では1.6%であつた。以上から RFP あるいは EB は病巣内の結核菌に対して、静菌力とともに殺菌的な影響力も発揮する可能性が示唆された。

以上このシンポジウムに提出された data は、すべて retrospective な検討によるもので、過去の強弱種々の化学療法例に拠っている。はじめに述べたごとく治癒、したがって悪化の様相は化学療法の強さに依存するならば、今後最強な化学療法が主として用いられるときには、悪化の定義も更に明確に割り切れたものとなるとともに、悪化の頻度も少なくなることが期待される。

結 論

現在の進歩した化学療法のもとでは従来わが国で用いられていた悪化の定義が妥当であるか否かを検討するとともに、悪化再発の頻度が化学療法の進歩によつていかに変化したかを調査して次の結果を得た。

1) 塗抹陽性培養陰性結核菌の排出は大多数の例において悪化とは関係がない。したがってこれを直ちに悪化と考えるべきではない。

2) 病巣陰影増加および新陰影出現は強力な化学療法開始後早期に現れ、同一化学療法下に消失するものも多く、また非結核性炎症によるものもあるので、これらの陰影を悪化と考えるには慎重を要する。

3) 強力な化学療法下においては陰影増加を伴わない透亮化は、その経過からみてその殆んど全部は悪化に該当しない。

4) 最近の化学療法、ことに RFP、EB の使用によつて、初回治療例はもちろん再・継続治療例においても悪化、再発の大幅な減少傾向がみられた。