

原 著

塗抹陽性培養陰性結核菌の成因および
臨床的意義に関する研究

東 村 道 雄・外 山 春 雄

国立療養所中部病院

受付 昭和 59 年 4 月 4 日

STUDIES ON THE ORIGIN AND CLINICAL SIGNIFICANCE
OF SMEAR-POSITIVE AND
CULTURE-NEGATIVE TUBERCLE BACILLI

Michio TSUKAMURA* and Haruo TOYAMA

(Received for publication April 4, 1984)

1. Effect of chemotherapy on the appearance of smear-positive and culture-negative acid-fast organisms (SPCN).

The rate of SPCN specimens was higher in hospitalized patients who were receiving antituberculous agents than in newly hospitalized patients before starting chemotherapy (Tables 1-3). The administration of chemotherapy is likely to produce more SPCN specimens, although single administration itself did not influence the rate of SPCN (Table 4).

2. Influence of the medium used for isolating acid-fast organisms.

When compared with the Ogawa egg medium, the use of "Tween egg medium" reduced the rate of SPCN specimens (Tables 2, 5 and 6).

3. Patients excreting SPCN organisms for a long time.

Out of 17 patients who showed 3 times or more the SPCN specimens, 6 were shown to excrete the SPCN organisms frequently and the other 11 showed the SPCN specimens only in the course of 'complete' negative conversion (Table 7). The mode of excretion of acid-fast organisms in these 6 patients are shown in Table 8, and their background in Table 9. These patients showed positive cultures of *Mycobacterium tuberculosis* in the further long-term observation. One example is shown in Table 10.

From the results of the present study, the majority of SPCN organisms are considered as dead bacteria, although a part of them may be alive as seen from the fact that the rate of SPCN specimens has been decreased by an improvement of medium. The SPCN phenomenon appeared usually in the course of negative conversion, but, in a few cases, the phenomenon persisted. These patients showed, when observed for long time, positive cultures of *M. tuberculosis*. The continuous excretion of the SPCN specimens is interpreted as excretion of dead bacteria from a lesion where *M. tuberculosis* organisms are growing continuously but slowly.

Keywords : Smear-positive and culture-negative tubercle bacilli, Clinical significance

キーワードズ : 塗抹陽性培養陰性結核菌, 臨床的意義

* From the National Chubu Hospital, Obu, Aichi 474 Japan.

緒 言

塗抹陽性培養陰性抗酸菌 (smear-positive and culture-negative acid-fast bacilli=SPCN) の存在は古くから知られているが、最近10数年間に特に問題となってきたように思われる。これがRFPの出現と関係があることは、多くの研究者が実感していることである¹⁾²⁾。最近、この問題に関する工藤¹⁾の総説が現われた。工藤によれば、培養手技の不適當による例外的事例を除いて、SPCNは死菌とみなしてよいという。しかし、問題になるのは工藤も指摘するごとく、難治結核例におけるSPCNで、これは必ずしも予後がよいとはいえない。同様のことは、青柳²⁾、山崎³⁾によっても観察されている。しかしながら、このような症例のSPCNに対して適当な成因の説明がなされていない。本報では、筆者の観察結果からこの問題に取り組んでみた。表題を、塗抹陽性培養陰性「抗酸菌」としないで、敢えて「結核菌」としたのは、以下に述べるようにSPCNの菌は結核菌であろうと強く推定されるためである。

研究 方法

研究対象としたのは、国立療養所中部病院の入院患者である。成績は、原則としてこれらの患者について実施した月1回の月例検痰の結果から取った。

喀痰検査

朝痰1個を採取し、先ず塗抹標本を作製し、auramine染色後、蛍光顕微鏡で観察し、Gaffky号数を決めた。Gaffky号数は、以前に使用したZiehl-Neelsen染色法によるGaffky号数と可及的一致するように決めた。塗抹標本作製後、直ちに等量の4%NaOH液(喀痰が薄い場合は2%NaOH液)を加え、室温で15分間機械的に振盪して喀痰を溶解し、その0.02mlを渦巻白金耳で

2回培地に塗抹接種した(接種量は計0.04ml)⁴⁾。使用した卵培地は、1977年以前は「1%小川培地」、1978年以後は「Tween卵培地」⁵⁾であった。培地は7mlずつ165×16.5mmの試験管に分注し、90°C60分滅菌することにより斜面培地として仕上げた。接種後、試験管に、底に3mmの切れ目のあるダブルゴム栓をかぶせ、37°Cに8週間培養した。集落の発育は4週後と8週後に観察した。

発育した集落から塗抹標本を作ってZiehl-Neelsen染色を行ない、抗酸性を確かめた後、次の培地による耐性検査を行なった。使用培地は「1%小川培地」。薬剤含有量:Streptomycin sulfate (SM), 20μg/ml; Sodium p-aminosalicylate (PAS), 1 μg/ml; Isoniazid (INH), 0.1μg/ml; Kanamycin sulfate (KM), 100μg/ml; Enviomycin sulfate (EVM), 100μg/ml; Ethionamid (TH), 40μg/ml; Rifampicin (RFP), 50μg/ml; Ethambutol (EB), 5 μg/ml; p-Nitrobenzoic acid (PNB), 500μg/ml; 対照(薬剤なし)。この培地に被検菌を1白金耳ずつ塗抹接種し、37°C4週培養後に発育を判定した。PNB培地に発育しない菌は結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) と判定した。PNB培地発育菌については既報⁶⁾の方法で同定を行なった。なお、SPCNを頻回に呈する患者が時に培養陽性となることがあった。これらの患者の培養陽性の菌(表8)については、PNB培地によるだけでなく、詳細な同定を行なった⁶⁾。

研究 成績

1. 塗抹陽性培養陰性抗酸菌 (SPCN) 出現率と化学療法の関係

1978-1980年の3年間の新規入院患者(結核病棟)の入院時(化学療法開始前)の検痰成績を表1に示す。

Table 1. Results of First Sputum Examination on Newly Hospitalized Patients (Before Administration of Antituberculous Agents)

Year	No. of patients	Number of patients			
		Smear (+) Culture (+)	Smear (+) Culture (-)	Smear (-) Culture (+)	Smear (-) Culture (-)
1978	353	99	3	40	211
1979	319	87	3	47	182
1980	302	77	3	55	167
Total	974 100.0%	263 27.0%	9 0.9%	142 14.6%	560 57.5%

The medium used for isolating acid-fast organisms was "Tween egg medium". The rate of smear-positive and culture-negative cases in all smear-positive cases was $\{9 / (263 + 9)\} \times 100\% = 3.3\%$.

塗抹陽性患者272名中 SPCN の患者は9名で、出現率は3.3%であった(表1)。一方、在院中の患者に行なった毎月1回の月例検痰の成績を表2に示す。結核化学療法を既に施行中の在院患者での SPCN の出現率は12.7%であった(表2)。

この化学療法開始前の患者の SPCN 出現率と化学療法を施行中の在院患者の SPCN 出現率とを比較すると、後者の出現率の方が統計学的有意差で大であり、SPCN が化学療法により増加していると考えられる(表3)。

ここに言う化学療法の影響とは、長期にわたる化学療法が菌の性状を修飾して SPCN を増加させたものと考えてよい。前日投与の化学療法が翌日の検痰に影響

を及ぼして発育不能にしたといった態のものではない。その証拠に、新規入院患者で化学療法前に行なった培養成績と、RFP+INH 投与の翌朝行なった培養成績を比較してみると、両者に全く差を認めない(表4)。

以上の結果は、少なくとも SPCN のかなりの部分が、化学療法の結果、発育不能となった菌であることを示す。

2. 塗抹陽性培養陰性抗酸菌(SPCN)の一部は培地の改良によって発育可能となる。

上述の1978~1980年の3年間の観察は、「Tween 卵培地」を使用しての成績である。中部病院では1977年までは「1%小川培地」を初代分離培地として使用して

Table 2. Results of Monthly Sputum Examinations on Patients under Hospitalization (During Administration of Antituberculous Agents)

Year	No. of patients	Number of patients			
		Smear (+) Culture (+)	Smear (+) Culture (-)	Smear (-) Culture (+)	Smear (-) Culture (-)
1978	5,420	509	80	239	4,592
1979	4,962	549	95	200	4,118
1980	4,310	422	40	224	3,624
Total	14,692 100.0%	1,480 10.1%	215 1.5%	663 4.5%	12,334 84.0%

The medium used for isolating acid-fast organisms was "Tween egg medium".

The rate of smear-positive and culture-negative cases in all smear-positive cases was $\{215 / (1,480 + 215)\} \times 100\% = 12.7\%$.

Table 3. Comparison of the Rate of Smear-Positive and Culture-Negative Cases between Newly Hospitalized Patients on Admission (Before Administration of Antituberculous Agents) and Patients under Administration of Antituberculous Agents

	Newly hospitalized patients	Patients under hospitalization
Number of all smear-positive cases	272 ^a	1,695 ^b
Number of smear-positive and culture-negative cases	9 (3.3%)	215 (12.7%)

a : The results of the first sputum examination on each patient on admission.

The number of specimens equals to the number of patients.

b : The results of monthly sputum examinations on hospitalized patients.

The actual number of patients who stayed in each month and showed smear-positive specimens was, in average, $(1,695/12) = 141.3$.

The difference in rates of smear-positive and culture-negative specimens among all smear-positive specimens as statistically significant ($\chi^2 = 19.4$; $P < 0.001$).

いた。この時期の1975～1977年の3年間の検痰成績を表5に示す。塗抹陽性標本中のSPCN出現率は15.6%で、「Tween卵培地」を使用した1978～1980年の3年間の12.7%（表2）より多い。この「小川培地」使用時のSPCN出現率と「Tween卵培地」使用時のSPCN出現率を比較してみると、統計学的有意差で「Tween卵培地」使用時の方がSPCN出現率が少ない（ $\chi^2=$

6.23； $P<0.025$ ）（表6）。

以上の結果から、少なくともSPCNの一部は、培地を「1%小川培地」から「Tween卵培地」に変えることにより発育するようになったと言える。しかし、大部分は「Tween卵培地」でも発育しない。

3. 塗抹陽性培養陰性抗酸菌（SPCN）の出現様式
1978～1980年の3年間の月例検痰（「Tween卵培地

Table 4. Culture Positivity of Acid-Fast Organisms in Newly Hospitalized Patients Before and After Administration of Antituberculous Agents

	Number of positive cultures	Number of patients examined
Before administration ^a	91	190
After administration ^b	92	190

a : Result of sputum examinations which were carried out before administration of antituberculous agents.

b : Result of sputum examinations which were carried out on the same patients one day after the administration of rifampicin (0.45g daily per os) plus isoniazid (0.2g-0.4g daily per os).

Table 5. Results of Monthly Sputum Examinations Made on Patients under Hospitalization in 1975-1977

Year	No. of patients	Number of patients			
		Smear(+) Culture(+)	Smear(+) Culture(-)	Smear(-) Culture(+)	Smear(-) Culture(-)
1975	6,628	682	121	382	5,443
1976	6,185	518	96	384	5,188
1977	5,732	503	98	255	4,876
Total	18,545 100.0%	1,702 9.2%	315 1.7%	1,021 5.5%	15,507 83.6%

The medium used for isolating acid-fast organisms was Ogawa egg meium

The rate of smear-positive and culture-negative cases in all smear-positive cases was $\{315 / (315 + 1702)\} \times 100\% = 15.6\%$.

Table 6. Comparison of the Rate of Smear-Positive and Culture-Negative Cases in All Smear-Positive Cases by Monthly Sputum Examinations between Ogawa Egg Medium and Tween Egg Medium

Medium used for isolating acid-fast organisms	No. of all smear-positive and cases : A	No. of smear-positive and culture-negative cases : B	Ratio : (B/A) × 100%
Ogawa egg medium	2,017	315	15.6%
Tween egg medium	1,695	215	12.7%

The difference in rates of smear-positive and culture-negative cases is statistically significant ($P<0.05$ by the χ^2 -test). The result indicates that the Tween egg medium is superior to the Ogawa egg medium for obtaining positive cultures.

使用)における SPCN 排菌回数を患者別に調査すると、表7に示すごとくである。

SPCN 排菌患者は120名で、うち1回のみ排菌した患者が85名、2回排菌した患者が18名である。SPCN を3回以上排菌した患者は合計17名で、これらの患者の排菌状態を検討してみた。

SPCN 3回排菌患者11名中の10名と、4回排菌患者1名の計11名では、SPCN は化学療法開始後、塗抹陽性培養陽性から塗抹、培養ともに陰性になる過程で出現していた。即ち、化学療法によって生じた死菌と考えて差支えないものであった。

しかし、24回から5回 SPCN を排菌した5名と3回排菌中の1名の計6名は、かなり長期にわたって頻回

に SPCN を排菌し、決して単純な陰性化の過程とは考えられないものであった。これらの6名の患者(表7中の a-f)の排菌状況とその背景因子を表8および9に示す。

最も著しい例は、表8の症例1で、114ヵ月の月例検痰で91回の SPCN を示している。

これらの患者の培養陽性時の菌については、1978年以降(1977年までは PNB 培地のみ)詳細な同定を行なったが、分離株全部が例外なく *M. tuberculosis* であった。この結果は、SPCN を示す菌が非定型抗酸菌ではなく、結核菌 (*M. tuberculosis*) であることを強く示唆するものである。

表9の背景因子をみて注目されることは、6例中3

Table 7. Frequency of Smear-Positive and Culture-Negative Sputum Specimens in Tuberculous Patients Which Was Observed during Period of 1978-1980 by Monthly Sputum Examinations

Frequency of smear-positive and culture-negative specimens by monthly sputum examinations	Number of patients	Number of smear-positive and culture-negative specimens
24 ^a	1	24 × 1 = 24
13 ^b	1	13 × 1 = 13
8 ^c	1	8 × 1 = 8
7 ^d	1	7 × 1 = 7
5 ^e	1	5 × 1 = 5
4	1	4 × 1 = 4
3 ^f	11	3 × 11 = 33
2	18	2 × 18 = 36
1	85	1 × 85 = 85
Total	120	215

a-f, see Tables 8 and 9.

Table 8. Results of Monthly Sputum Examinations of Patients Who Showed Frequently Smear-Positive and Culture-Negative Specimens

Case	Total number of sputum specimens examined	Number of sputum specimens			
		Smear(+) Culture(+)	Smear(+) Culture(-)	Smear(-) Culture(+)	Smear(-) Culture(-)
1. T. A. 52M ^a	114	15	91	2	6
2. K. A. 79M ^b	218	10	26	11	171
3. T. M. 67F ^c	36	10	10	1	15
4. T. K. 44M ^d	27	9	8	1	9
5. Y. N. 71M ^e	32	2	10	0	20
6. K. N. 61F ^f	200	22	21	21	136

The data of this table include all results of monthly sputum examinations made during the hospitalization period. The patients who showed the smear-positive and culture-negative specimens during the course of negative conversion of tubercle bacilli were excluded.

Table 9. Background and Prognosis of Patients Who Showed Frequently Smear-Positive and Culture-Negative Sputum Specimens

Case	Age and sex ^a	X-ray picture	Resistance of tubercle bacilli ^b	Complication	Prognosis
1.T.A. ^a	52M	Large cavity in sclerotic lesion with partial pneumothorax in right lung ; bulla-like small cavities in left upper lobe	INH, RFP, KM, EVM		Died due to respiratory insufficiency
2.K.A. ^b	79M	Multiple bullae in right lower lobe	INH, RFP	Diabetes mellitus	Died due to gastric cancer
3.T.M. ^c	67F	A large cavity in right upper lobe	SM, INH, PAS, KM, RFP	Diabetes mellitus	Improved
4.T.K. ^d	44M	Two large cavities in right lung with partial pneumothorax	INH, PAS, KM, RFP		Unchanged(not improved)
5.Y.N. ^e	71M	A medium-sized cavity in left upper lobe	SM, INH, PAS, KM	Diabetes mellitus	Complete negative conversion
6.K.N. ^f	61F	A medium-sized cavity in sclerotic lesion in right upper lobe	SM, INH, PAS, TH, RFP, EB, EVM		Unchanged

a M, Male ; F, female. b SM, Streptomycin ; INH, Isoniazid ; PAS, p-Aminosalicylate ; KM, Kanamycin ; EVM, Enviomycin ; TH, Ethionamide ; RFP, Rifampicin ; EB, Ethambutol.

Table 10. Mode of Excretion of Acid-Fast Organisms (*Mycobacterium tuberculosis*) in a Patient (Case 1) by Monthly Sputum Examinations

Year Month	1976											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Smear	III	—	IV	IV	V	III	III	V	V	VI	V	V
Culture (4weeks)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Culture (8weeks)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Year Month	1977											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Smear	V	V	III	VI	V	VII	VI	V	VI	VI	V	V
Culture (4weeks)	—	—	—	—	—	3	+	—	—	—	—	—
Culture (8weeks)	—	—	—	—	—	10	+	21	+	2	+	—

Arabic number shows the number of colonies, and symbol+ shows the amount of colonies more than 100. All isolates were identified as *Mycobacterium tuberculosis*.

例に糖尿病の合併があること、2例に長期にわたる部分気胸(症例1および4)が存在することである。気胸は症例1では呼吸不全による死亡まで、症例4では不変退院まで存続した(入院期間は症例1, 114ヵ月; 症例4, 27ヵ月)。

6例中、遂には塗抹、培養ともに陰性となった症例5を除いて、他の5例は観察期間中SPCNの排菌と短期間の培養陽性を繰り返した。培養陽性は数コロニーの場合が多かった。その1例を表10に示す。これは症例1の1976年、1977年の排菌状態で、長期のSPCNの後に6ヵ月の培養陽性の時期が続いている。この培養陽性菌はPNB培地に発育せず、*M. tuberculosis*と同定された。この患者は、同様な状態を繰り返し、X線像は不変で、最後は呼吸不全(肺性心)の状態で1981年10月に死亡した。この患者はSPCNを114回の月例検痰中91回も排菌しながら、化学療法によっても病状好転せず、間欠排菌を示しながら死亡した例である。他の症例2, 3, 4, 6も、頻回のSPCNを示しながら結局培養陰性にはならなかった。

考 察

塗抹陽性培養陰性抗酸菌(SPCN)に関するこれまでの問題は、殆んど工藤¹⁾の総説に尽くされているので、ここでは、それを繰り返さない。工藤によれば、SPCNは培養手技の不適切によるものを除いて、一応死菌と考えてよいものであるが、難治結核に長期出現するSPCNの臨床的意義については問題として残している。山崎³⁾は長期SPCNを示す死亡例を報告し、長期間SPCNを示す症例の予後が必ずしも楽観を許さないことを示している。この点に関しては、工藤¹⁾も同じ見解のようである。最近、青柳²⁾はSPCNがRFPの投与と関係があることを示すと同時に、SPCN長期排菌例では結核の悪化を伴うことが多いと述べている。以上の工藤、山崎、青柳の報告をみると、長期SPCN排出例の予後が必ずしもよくないことを指摘している点で共通している。しかし、この所見が、SPCNが死菌であるとする考えと一見矛盾することは明らかで(SPCNが死菌であれば予後は良好であって然るべきである)、この矛盾に対する適当な説明は行なわれていない。この説明を試みるのが、本報の目的である。

本報で得た結果を総括すると次のごとくである。

1) SPCNの出現率は、化学療法の実施によって、開始前の3.3%から実施後の12.7%に増加し、SPCNの成因の大きい部分が化学療法による菌の変化であることを示している。

2) SPCNの出現率は、分離培地に「1%小川培地」を使用していたときは、塗抹陽性標本の15.6%であったが、「Tween卵培地」の使用により12.7%となった。即ち、SPCNの一部分は、培地の改良により発育可能

となった。なお、工藤¹⁾はSPCNを少しく減少させるために16週まで培養することをすすめているが、「Tween卵培地」を使用する限り、培養期間の延長によりSPCNが減少することはなかった(未発表成績)。また、培養陰性培地からの再接種もSPCNの減少には無効であった⁷⁾。以上の結果は、「Tween卵培地」が「1%小川培地」よりも分離培地としてすぐれていることを示すと同時に、本培地を使用する限り培養期間は8週で十分であることを示している。培養期間の延長は、孵卵器の空間を塞いで検査室の運営を困難にするので、「Tween卵培地」を使用するかがり、観察は8週培養で切り切つて差し支えないと思われる。

3) SPCNを長期間にわたって排菌した患者の培養陽性菌は全部結核菌と同定された。従って、SPCNは結核菌の死菌と考えてよいと思われる。

4) SPCNを長期排菌した患者が6例あった。その中の1例のみが、のちに真の陰性化に到達した。残りの5例は、その後もSPCNの排菌と間欠培養陽性を続け、症状が好転することはなかった。以上の観察から、SPCNの成因に対する著者の見解をまとめると次のごとくである。SPCNは、アルカリ処理のやりすぎのような技術的ミスによるものを別として、「化学療法により生じた発育不能な結核菌が排菌されている状態」と考えられる。以下、「発育不能な結核菌」を簡単に「死菌」と呼ぶ。SPCNの排菌様式には2種類あり、1つは、真の陰性化(塗抹、培養とともに陰性)の過程で出現するSPCN、他は長期にわたって排泄されるSPCNである。この2つのSPCNの成因を、次の仮説によって説明したい。

試験管内で結核菌を培養する場合、菌が活発に増殖している時期の集落は、殆んど全部が生菌からできている。しかし、集落の成長が殆んど停止して、菌の発育速度が遅くなった時期の集落は、大部分が死菌であって、生菌は少数しか含まれていない⁸⁾。この観察は、菌の発育速度と生死とが関連性があることを示唆している。次に、別の試験管内実験では、発育阻止濃度を少し下まわる濃度の化学療法剤を含む培地に培養した結核菌は、発育速度が遅延し、徐々にしか発育しない。しかも、こうして緩徐に発育した集落の菌は、その大部分が死菌であることが観察された⁹⁾。耐性菌を、耐性となった薬剤を含む培地に培養した場合も、対照培地に比べて少しく発育速度が遅延する¹⁰⁾。しかし、発育能力喪失は著明ではない¹¹⁾。

以上の試験管内実験で観察された現象が、空洞でも起こると考えた場合、SPCNの成因を次のように説明できる。

(1) 空洞内で結核菌が盛んに増殖し、これが直ちに喀痰中に排泄されたとすると、塗抹、培養ともに陽性の結核菌が出るにちがいない。この場合は、化学療法前

の排菌状態に相当すると思われる。

(2) 上述の病巣に対して強力な化学療法が行なわれた場合、結核菌の発育は阻止されるか(阻止濃度)、あるいは発育速度が著しく遅延させられる(阻止下濃度)。このため死菌が生じ、これがSPCNとなって痰の中に現われる。しかし、病巣の結核菌が死滅してしまい、増殖する結核菌がなくなると、真の陰性化(塗抹、培養ともに陰性)が起こる。この場合が、SPCNの排菌に続いて、菌の完全陰性化が起こる場合である。

(3) 化学療法を行なっても、病巣に対する化学療法の作用が十分ではなく、病巣中での菌の増殖を停止できない場合は、病巣での菌の増殖は継続される。この場合、化学療法剤の病巣中濃度は菌の発育停止を起こすほどではないが、菌の発育速度遅延を起こさせ、ために多数の発育能力喪失菌(死菌)が生じる。これがSPCNとなって現われる。しかし、緩徐ではあるが増殖が続いているので、SPCNは次々と生じ、偶には生菌も少数排泄されて培養陽性の少数の集落を作る。このような状態が、長期にわたってSPCNが排菌される原因であると考える。即ち、化学療法の影響を受けて、発育速度は遅延しているが、なお増殖が持続する状態の病巣からの排菌が、長期にわたってSPCNを排菌する原因と思われる。従って、長期SPCN排菌例は、全抗結核剤完全耐性ではなく、多少とも有効な薬剤を残している場合と思われる。しかし、これらの患者には、菌の真の陰性化を妨げる、なんらかの要因(糖尿病のような全身的要因、あるいは硬化した病巣のような局所的要因)を持つものであるがゆえに、予後が必ずしもよくないことが理解できる。

(4) 全抗結核剤に耐性の結核菌集団が確立してしまった場合は、耐性薬剤の作用は著明ではないので、発育遅延は軽微であり、従って発育能力喪失も軽度である。従って、SPCNの形成は著明ではない。

病巣中の結核菌に対する化学療法剤の効果は、直接的殺菌作用(試験管内実験では24時間で死菌化する¹²⁾)を呈するほどのものではないと筆者は考えている。その理由は、殺菌作用は活発に増殖しつつある菌(試験管内実験では結核菌のgeneration timeは10~12時間)に対してだけ観察されているもので、いわゆる"resting state"の菌に対しては殺菌効果はない¹³⁾¹⁴⁾。空洞内の結核菌の発育速度は、generation time 50時間以上と推定されているので¹⁵⁾、このような発育速度の結核菌に対して、果して殺菌効果が発揮できるものか甚だ疑問に思われる。従って、化学療法剤により死菌が生じるとすれば、それは発育阻止ないし発育遅延に由来する死菌であって⁹⁾、間接的殺菌効果によるものではないかと考える。このように、化学療法剤の殺菌効果が決定的なものではないとすると、生体内の結核菌に最後のとどめを刺すのは、宿主細胞の食菌能であるかもしれ

ない。もし、そうであれば、老人や糖尿病患者のように宿主細胞の力が弱った場合に、結核菌の絶滅が出来にくいことも理解できる。長期SPCN排菌患者に、糖尿病が目につくのも、糖尿病患者では、宿主細胞の力が減弱しているため結核菌の絶滅が起こりがたく、SPCNを生じる可能性が多いのではないと思われる。

要するに、問題のSPCN長期排菌例は、『活動性で結核菌の増殖が続いているが、化学療法のために極く緩徐にしか増殖できない結核菌を排出する病巣』をもつ患者であると考えられる。このような遅い発育を示す結核菌は容易に発育能力を失って死菌化し、SPCNとなる。そして、病巣では緩徐な増殖が続くので、次々とSPCNが生じるものと思われる。

結 論

- 1) 塗抹陽性培養陰性結核菌(SPCN)の出現率は、化学療法開始前の患者では、塗抹陽性標本の3.3%にすぎないが、化学療法実施中の患者では、12.7%に増加した。SPCNの成因には化学療法が関係していると思われる。
- 2) 分離培地に「1%小川培地」を使用した場合、SPCNは塗抹陽性標本の15.6%であった。これに対して、「Tween卵培地」を使用すると、SPCNは塗抹陽性標本の12.7%に減少した。この両者のSPCNの率の差は統計学的に有意であった。SPCNは化学療法により生じた死菌と考えられるが、一部は培地の改良によって発育可能となるものと思われる。
- 3) SPCNを長期間にわたり、頻回に排菌した患者6例で、偶々、培養陽性となった抗酸菌は例外なく全部が結核菌と同定された。従って、SPCNは結核菌のSPCNであると考えられる。
- 4) SPCNは通常、化学療法による菌陰性化の過程で出現する死菌であると考えられる。しかし、SPCNを長期間にわたり、頻回に排菌する患者がある。これらの患者では長期に観察すれば、必ず結核菌の培養が陽性のときがある。この場合のSPCNの成因は次のごとく考えられる。これらの患者では、結核菌は化学療法剤の影響で発育速度が遅延している。発育が遅延した結核菌は容易に発育能力を失って死菌となり、SPCNとなって痰の中に出現する。しかも、これらの患者では、病巣中に到達する化学療法剤の濃度は、発育阻止を起こすには不十分で、病巣中の菌の増殖は続いている。従って、次々とSPCNが産生されると考えられる。阻止下濃度の化学療法剤による結核菌の発育遅延と死菌化については、前に筆者が試験管内実験で観察した。

文 献

- 1) 工藤祐是：喀痰における抗酸菌塗抹陽性培養陰性、抗酸菌検出における諸問題に関連して、結核、56；

- 291-299, 1981.
- 2) 青柳昭雄：塗抹陽性，培養陰性結核菌，日本結核病学会総会，東京，1984年4月，結核，59：191，1984.
 - 3) 山崎正保：初回強化治療と塗抹陽性培養陰性例，TB Note, no.37：29-32，1982.
 - 4) 東村道雄・外山春雄・深谷勇二：喀痰から抗酸菌を分離するための渦巻白金耳接種法についての知見補遺，医療，33：509-513，1979.
 - 5) Tsukamura, M., Toyama, H., and Fukaya, Y. : "Tween egg medium" for isolating mycobacteria from sputum specimens, Microbiol Immunol, 23 : 833-838, 1979.
 - 6) Tsukamura, M. : Identification of mycobacteria, p. 1-75, The National Chubu Hospital, Obu, Aichi 474, Japan.
 - 7) Tsukamura, M., Toyama, H., and Fukaya, Y. : Re-inoculation of surface material from culture negative medium as an aid to the isolation of mycobacteria, Tubercule, 62 : 47-48, 1981.
 - 8) 東村道雄・野田用：小川培地斜面と渦巻白金耳接種を用いる結核菌生菌数の測定，結核，32：639-642，1957.
 - 9) Tsukamura, M., and Noda, Y. : Reduction of viability duration of *Mycobacterium tuberculosis* produced by subinhibitory concentrations of antituberculous drugs, J. Antibiotics, Series A, 11 : 156-159, 1958.
 - 10) Tsukamura, M. : The effect of streptomycin in delaying the growth rate of streptomycin-resistant mutants of *Mycobacterium tuberculosis*, J. Antibiotics, Ser. A, 12 : 105-106, 1959.
 - 11) 東村道雄・野田用・山本昌邦：SM・PAS・INH三者併用療法の細菌学的基礎，日本臨床結核，17：861-868，1958.
 - 12) 東村道雄・水野松司：Minocyclineの抗結核菌作用（試験管内実験），結核，58：379-384，1983.
 - 13) 東村道雄：結核菌発育環とstreptomycinの殺菌作用との関係について，医学と生物学，22：41-43，1952.
 - 14) Schaefer, W. B. : The effect of isoniazid on growing and resting tubercle bacilli, Am Rev Tuberc, 69 : 125-127, 1954.
 - 15) 東村道雄：結核菌のrifampicin, kanamycin, ethionamide, lividomycinおよびenviomycinに対する「*in vivo*耐性発現」時間の比較，結核，53：495-498，1978.