

第61回総会シンポジウム

I. 結核の医学教育は如何にあるべきか

座長 寺 松 孝 (国立療養所兵庫中央病院)

受付 昭和61年8月13日

The 61th Annual Meeting Symposium

I. HOW TUBERCULOSIS BE TAUGHT IN MEDICAL EDUCATION

Chairman : Takashi TERAMATSU *

(Received for publication August 13, 1986)

Necessity to teach how to control tuberculosis for medical students, medical personnels and lay persons has been increasing.

In this symposium, emphasis was given how tuberculosis be taught in medical education at present, and the following problems were discussed :

- (1) Preservation of tuberculosis beds in general hospitals and teaching hospitals for medical education,
(Under the existing law, tuberculosis ward is needed.)
- (2) How to revise soon the present guide book for the standard knowledge of tuberculosis published by the Japanese Society for Tuberculosis and preparation of slides concerned to the guide book,
- (3) How to train general practioners and lay-persons using the above educational materials.

Initiatives for the above actions should be taken by prefectural goverment in cooperation with health centres under the supervision of the Ministry of Health and welfare.

Key words : Medical Education of Tuberculosis, Necessity, counter measures of Education for Tuberculosis

キーワード : 結核医学教育, 結核医学教育の具体

——司会者としての要約——

現状のままでは、結核症の撲滅が容易ではないということが、次第に明らかとなっているにもかかわらず、結

* From the National Hyogo Central Hospital, 1314 Ohara, Mita City, Hyogo 669-13 Japan.

核医療従業者の間においてすら、結核軽視の風潮が存在し、しかも拡大しつつあるということは、問題である。

本シンポジウムの目的は、このような現状を明らかにし、如何に対処するかを論ずるにあることは、すでに抄録集において述べた。

また、本シンポジウムの構成等も説明しているので、ここでは、具体的にどうすべきかについて、議論された所を要約しておきたい。

結核についての関心、あるいはこれまでの進歩の後を踏まえた結核への理解という点で、学生、結核医及びその周辺に欠ける所があるということは、本シンポジウムにおいて指摘されたとおりである。

そこで、将来への対策が講ぜられたが、対策としては、当然の事ながら、

- 1. 大学における結核の講義のより一層の充実

- 2. 一般医師や結核医療従事者の再教育
 - 3. 国民全般の結核への理解の浸透
- の3点が挙げられた。そして、当面の具体策として、
- 1. 大学病院、総合病院における結核患者用病室の設置
 - 2. 日本結核病学会出版の「結核症の基礎知識」の早期の改訂及びその説明ないし理解を深めるためのスライド集の作成
 - 3. それらを用いての一般医家や住民に対しての結核への再教育が提案された。

しかしながら、これらの案を実施するに当っては、単に学会、大学等のみならず、各都道府県、厚生省において、政策の一環として推進して頂く必要があることを強調しておきたい。

第1部 現 状

1. 世界における結核医学教育の現状

結核予防会結核研究所 島 尾 忠 男

1. はじめに

結核についての医学教育は、結核の蔓延状況が著しく改善された先進国と、未だ強く蔓延している開発途上国では、かなり違うことが予想されるので、両者を含めてアンケート調査を行った。予備調査での経験から、大学の教員は医学教育の全般を把握していないことが明らかにされたので、教員の代わりに比較的最近医科大学を卒業した医師に調査表を送り、結核が医学教育の中でどのように扱われているかを調べることにした。

2. 調査の方法

国際結核予防連合（IUAT）の主要役員を通じて、身近にいる卒業後10年以内の医師に協力を求め、その外に最近10年以内に結核研究所で実施している国際研修コースに参加した医師の内、10年以内に大学を卒業した者に調査票を発送して、回答を求めた。同一大学から複数の回答があった時には、より若い医師からの回答を採用した。

3. 調査成績

1) 回答数

寄せられた回答数は85で、この内同一大学からの二重回答と、回答内容の不十分なものを除くと、表1に示したように28ヶ国の59大学から回答が得られた。先進国と開発途上国に分け、途上国を更にアジア、南米、アフリカに分けて分析した。

2) 結核についての授業時間

結核についての授業時間の平均は63時間で、この内33時間が講義、30時間が実習である。図1に見るように、先進国では38時間と少なく、殊に実習時間が少ない開発途上国では75時間で、授業時間の差は主として実習時間の差である。

結核についての授業時間の分布をみると、図2に示し

表1 調 査 対 象

	国 数	大学数	回答数
欧 米 先 進 国	8	18	22
開 発 途 上 国	20	41	63
ア ジ ア	9	25	30
南 米	5	7	9
ア フ リ カ	6	9	24
総 数	28	59	85

たように、60時間未満がほぼ2／3を占め、先進国のほうが授業時間の少ない大学が多い。授業時間が20時間未満の大学が先進国では7大学（39％）あったが、開発途上国でも5大学（12％）見られている。先進国でも、ソ連、イタリアでは結核・呼吸器疾患の講座を設置している大学が多く、ここで結核についての講義と実習が行われているため、授業時間数が比較的多くなっている。

3) 結核の授業の科目別割合

結核についての授業時間の科目別にみた割合を図3に示してある。全体では基礎医学系に24%, 公衆衛生系に8%, 内科系44%, 外科系16%, その他8%であった。基礎系では、病理学と細菌学がほぼ半分ずつを占めている。内科系では放射線学の占める割合がかなり大きい。外科系では、外科、整形外科、泌尿器科、皮膚科、産婦人科が各々1/5を占めている。

先進国でその他の割合が21%と多くなっているのは、上述した結核・呼吸器疾患講座での集中授業を実施している大学があるためで、内科系とその他を加えるとほぼ50%となっている。

開発途上国でも授業時間の割合は先進国と同様であるが、地域別に見るとかなりの差があり、南米では内科系が多く、アフリカでは基礎系が多く、内科系が少なくなっている。結核がまだ強く蔓延しているアフリカで、臨床での結核の教育時間が少ないことは問題点の一つである。

4) 結核についてのベッド・サイド教育

結核についてのベッド・サイド教育は88%に実施されており、先進国、開発途上国別の差は見られていない。

実施されている場所は、表2に見るように大学病院のみが28(47%), 関連病院のみが33(56%), 両者が9(15%)である。先進国では実施されている大学の半数

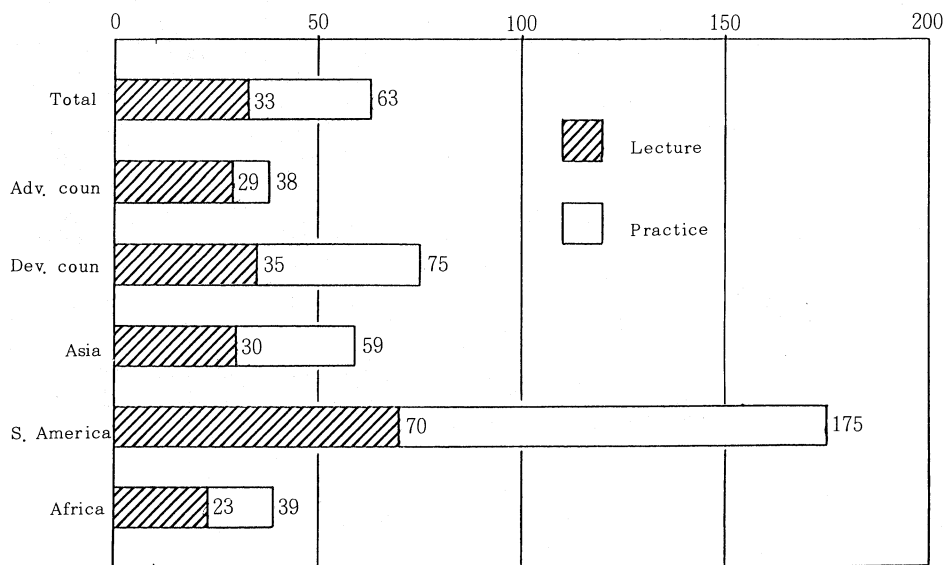


Fig. 1. Average hours spent for tbc teaching in medical school.

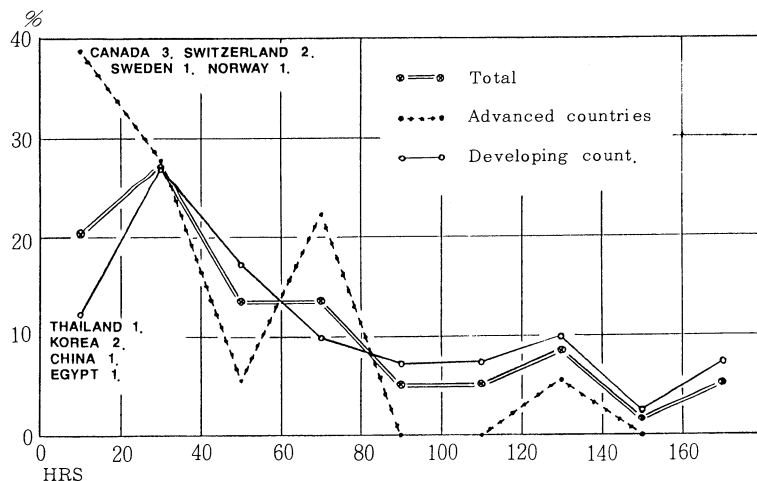


Fig. 2. Distribution of hours spent for tbc teaching in medical school.

が大学病院となっているが、これは上述した結核・呼吸器疾患講座があるためである。

5) 結核に関心を持つ教員

結核に特に関心を持つ教員の見られる割合を表3に示してある。教授あるいはその他の教員（助教授，専任講師）に結核に関心を持つ教員がいる割合は，基礎系では49%，公衆衛生系で32%，内科系で64%，外科系で27%

で，内科系に多い。先進国と開発途上国では，結核に特に関心を持つ教員のいる割合には著しい差はみられない。

各系のすべてに少なくとも一人は結核に関心を持つ教員のいる割合は，教授に限定すると10%，その他の教員で14%，教授かその他の教員のいずれかに一人とすると19%であった。

6) 医師国家試験における結核関係の問題の出題

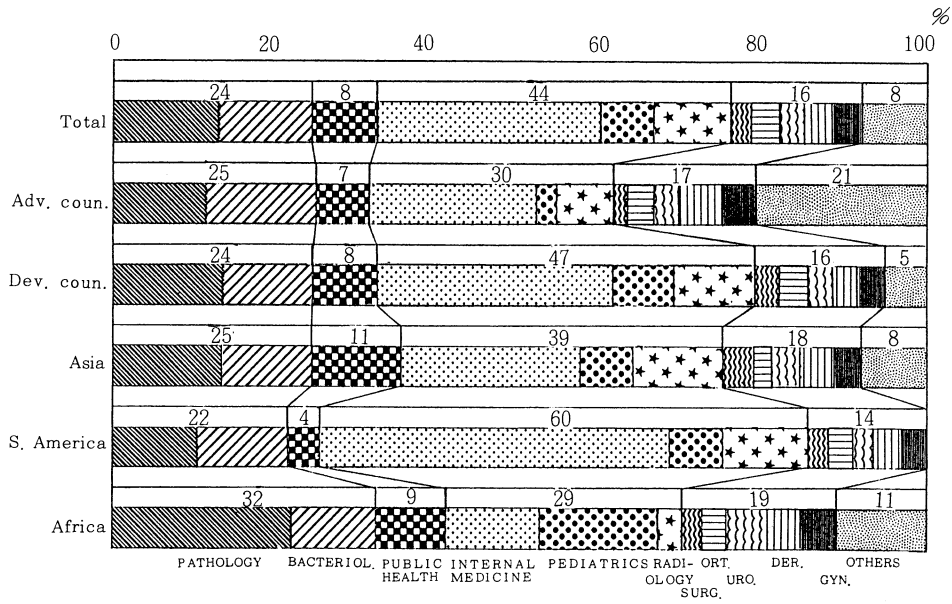


Fig. 3. Proportion of diffent disciplines in tbc teaching.

表2 結核についてのベッド・サイド教育の実施場所

	大学総数	大学病院	関連病院	両者(再掲)	実施せず
欧米先進国	18	8	8	0	2 (11%)
開発途上国	41	20	25	9	5 (12%)
総数	59	28	33	9	7 (12%)

表3 結核に特に関心を持つ教員ありの割合

	大 学	基 礎	公 衛	内 科	外 科	全科にあり	
欧米先進国	教授 その他 何れか	18	6	4	8	5	3 (17%)
			4	4	10	3	2 (11%)
			8	5	11	5	5 (28%)
開発途上国	教授 その他 何れか	41	16	9	23	7	3 (7%)
			19	10	23	9	6 (15%)
			21	14	27	11	6 (15%)
総 数	教授 その他 何れか	59	22	13	31	12	6 (10%)
			23	14	33	12	8 (14%)
			29	19	38	16	11 (19%)

表4 医師国家試験における結核関係の問題の出題頻度

	国 数	常時出題	屢々出題	時に出題	出題なし	国試なし	回答なし
欧 米 先 進 国	8	3	3	2	0	0	0
開 発 途 上 国	20	10	2	0	0	2	6
総 数	28	13	5	2	0	2	6

医学生への結核に対する関心を保つ手段の一つとして、医師国家試験の問題の中に、少なくとも一つは結核に関する問題を含めることが重要であると指摘されている。

この項目は医師国家試験に関連しているので、国別に集計した。28ヶ国の中で回答なしが6、大学卒業で医師の資格を与えられる国が2で、20ヶ国についての回答が得られた。

表4に示したように、結核についての問題が、医師国家試験に常時出題される国が13（65%）、しばしば出題される国が5（25%）、時に出題される国が2（10%）であり、出題がない国はみられなかった。

結核についての問題の出題頻度は、先進国では常時出題の割合が38%と少なくなり、時に出題される国が25%を占める。開発途上国では常時出題が83%と高く、しばしば出題が17%で、時に出題はない。

表5 結核及び／または肺疾患研究所の有無

	国 数	あ り	な し
欧 米 先 進 国	8	6 (75%)	2
開 発 途 上 国	20	14 (70%)	6
ア ジ ア	9	8 (89%)	1
南 米	5	4 (80%)	1
アフリカ	6	2 (33%)	4
総 数	28	20 (71%)	8

7) 結核、肺疾患研究所

この項目も国別に集計した。表5に示したように、結核及びまたは肺疾患の研究所は70%の国が保有しており、先進国、開発途上国とも同率である。しかし開発途上国の中で、アフリカの率が6ヶ国中2ヶ国（33%）と著し

く低い。

4. ま と め

医学教育の中の結核についての教育についてアンケート調査を行い、世界の28ヶ国59大学からの回答を得た。先進国8ヶ国、18大学、開発途上国20ヶ国41大学である。成績は次のように要約される。

1) 医科大学での結核についての授業は平均63時間、先進国で38時間、開発途上国で75時間であるが、アフリカが39時間と授業時間が少ない。授業時間の差は主として実習時間の差にあり、先進国で9時間、開発途上国で40時間である。

2) 結核教育の授業時間数の分布を見ると、20時間未満が20%で、先進国ではこの割合が38%と高く、開発途上国では12%と低い、大学に結核・呼吸器疾患の講座が残されている国では、先進国でも結核の授業時間が多い。

3) 結核教育の内容を科目別に見ると、基礎系が約1/4、公衆衛生系が1割弱、内科系がそれを併せて5割強、外科系が約1/6である。

4) 結核についてのベッド・サイド教育は88%の大学で実施されており、47%は大学病院で実施されている。

5) 大学の教員で結核に関心を持つ人がいる割合は、内科系に高く、4つの系のすべてで教員の誰かが結核に関心を持つ者がいる大学の割合は19%である。

6) 医師国家試験で結核に関する問題が常時出題される国は65%で、先進国では38%、開発途上国では50%である。

7) 国際機関が、医学教育の中での結核に関する授業について、最低これくらいは実施するべきであるという基準を設定し、授業の中で使用する教材についても準備することが望まれる。

2. 日本における結核医学教育の現状

名古屋市立大学第2内科 山 本 正 彦

目 的

結核患者の減少に伴って、多くの医育機関で結核病棟の廃止が進行しており、教員と学生の双方に結核に関す

る関心が急速に減少している現状である。

しかし、最近、結核患者の減少率は鈍化し、また患者の多い高齢層と、最近の低い感染率の下に育った若年層が混在している我が国では、患者発見の遅れが直ちに

集団結核の発生に結び付く危険性があり、結核教育は決してゆるがせに出来ない。

本研究は、現在の我が国の卒業前及び卒業後の結核教育の現状を知りその問題点を探ることを目的とした。

研究 方法

1. 卒業前における結核教育の現状

1) 全国80の医育機関に対するアンケート調査

全国80の医育機関に対してアンケートを送り、結核病床の有無、内科、外科、整形外科、泌尿器科、及び公衆衛生における結核に関する各論講義、臨床講義、及び bed side teaching の有無及び時間数を問合せ、その結果を分析した。

2) 医育機関の結核関連教科の教授、助教授のうち、少なくとも1人以上が日本結核病学会の会員である率

医育機関の各教科のうち、結核に関係があると思われる細菌学、病理学、公衆衛生、内科、小児科、外科、整形外科、泌尿器科について、教官の結核に対する関心の程度を知る一助として、各医育機関のこれらの教科(関連講座を含む、また内科など複数の講座のある科目は全体を通じて)に属する教授、助教授のうち、少なくとも1人以上が日本結核病学会の会員である率を「医育機関名簿 1985—1986」(羊土社)及び日本結核病学会会員名簿を対比して計算し、昭和54年の成績と比較した。

3) 日本結核病学会評議員に対する結核講義についてのアンケート

上記の医育機関の教官が日本結核病学会の会員である率が低く、結核の講義を学外の非常勤講師に依頼している施設が多いことにかんがみ、日本結核病学会の評議員にアンケートを送り、大学の結核講義に参加しているか否か、結核講義についての考え方を集計し、昭和54年の成績と比較した。

4) 結核予防会結核研究所の夏季講座の分析

卒業前教育の一部として、夏季講座などの課外講義が色々な施設で行われているが、その効果を知るため、結核予防会結核研究所で行われている夏季講座の実態を分析した。

2. 卒業後の結核教育の現状

1) 日本医師会医学講座

日本医師会で行われている日本医師会医学講座の最近5年間の成績を分析した。

2) TV, ラジオの医学番組

TV, ラジオの医学番組のなかにおける結核関連の講座の比率を分析した。

結 果

1. 卒業前における結核教育の現状

1) 全国80の医育機関に対する結核教育についてのア

ンケートの結果

a) 結核病床の有無

78施設(98%)より回答を得たが、結核病床あり21施設(28%)に対して、なし54施設(72%)であった。なしのうち途中廃止22施設、初めからなし27施設、不明5施設であり、廃止時期は昭和30年代3施設、昭和40年代10施設、昭和50年代8施設であったが、昭和60年にも2施設が廃止し、現在、廃止を検討中の施設もあり、決して結核病床の廃止ブームがおさまったとは言えない現状である。しかし、一方、最も遅く開校された琉球大学は結核病床を開設しており、札幌医科大学及び川崎医科大学はそれぞれ6床の結核病床を維持している。

b) 結核講義の実態

内科(回答率90%): 内科各論の講義に結核が取上げられたのは72施設100%であり、時間数は1単位30施設、2単位30施設、3単位以上12施設であったが、9施設では学外の非常勤講師によって講義が行われた。

過去2年間に臨床講義として結核を取上げたのは41施設(57%)であり、時間数は1単位22施設、2単位13施設、3単位以上6施設であったが、結核病床のある施設では95%で結核の臨床講義が行われたのに対して、ない施設では40%で行われたに過ぎず、その内容も胸膜炎、非排菌例、肺外結核が大部分であった。

Bed side teaching に結核を取上げたのは31施設(44%)であったが、結核病床のある施設では78%に行われたのに対して、ない施設では29%に行われたに過ぎなかった。一方、結核病床がないのに結核の bed side teaching を行った14施設では非排菌例を利用したのが7施設、関連病院で行ったのが5施設、その他2施設であった。

外科(回答率55%): 外科各論の講義に結核を取上げたのは35施設(80%)であり、時間数は0.5単位6施設、1単位19施設、2単位17施設、3単位以上3施設であった。過去2年間に臨床講義として結核を取上げたのは10施設(23%)であり、時間数は1単位7施設、2単位以上3施設であった。

整形外科(回答率61%): 各論講義に結核を取上げたのは46施設(94%)であり、時間数は0.5単位5施設、1単位34施設、2単位6施設、3単位以上1施設であった。

過去2年間に臨床講義として結核を取上げたのは21施設(44%)であり、時間数は1単位18施設、2単位以上3施設であった。なお整形外科では結核患者を比較的自由に一般病室に収容しているようであった。

泌尿器科(回答率74%): 各論の講義に結核を取上げたのは55施設(93%)であり、時間数は0.5単位5施設、1単位40施設、2単位以上10単位であった。

過去2年間に臨床講義として結核を取上げたのは21施設

設(35%)であり、時間数は1単位17施設、2単位以上4施設であった。泌尿器科の場合も結核患者を比較的自由に一般病室に収容しているようであった。

公衆衛生(回答率56%)：結核に関する講義を行ったのは42施設(93%)であり時間数は0.5単位6施設、1単位24施設、2単位7施設、3単位以上5施設であった。なお6施設(14%)では学外非常勤講師により講義が行われた。

表1 全国医育機関において結核講義の行われた率

	講義	臨床講義
内科	100%	57%
外科	80%	23%
整形外科	94%	44%
泌尿器科	93%	35%
公衆衛生	93%	

表2 名古屋市立大学における結核関連の講義

講義	単位	実習	単位
病理学 結核の病理	1	結核の病理	1
細菌学 結核菌の形態・培養・性状	1	抗酸菌染色、抗酸菌の培養経過観察	1
衛生学 結核患者の管理	1 / 3	保健所実習の中で	1 / 3
内科学Ⅰ 腸結核	1 / 5		
内科学Ⅱ 肺結核	1		
小児科学 髄膜炎、肺炎の鑑別診断	1 / 10		
外科学 肺結核の外科治療	1		
整形外科 骨関節結核	1		
産科婦人科学 性器結核、不妊症の一部として	1 / 4		
耳鼻咽喉科学 中耳、喉頭、頸部リンパ節結核	1 / 2		
皮膚科学 皮膚抗酸菌症	1		
泌尿器科学 腎、尿路、性器結核	1		
合計	9		3

注. 1単位は100分

表3 各科の教授、助教授のうち一人でも結核病学会会員である大学の率

	昭和54年	昭和60年
細菌学	16%	19%
病理学	6%	0%
公衆衛生	5%	6%
内科	44%	51%
小児科	3%	0%
外科	14%	16%
整形外科		0%
泌尿器科	0%	0%

これらの結果をまとめたのが表1であるが、結核に関する講義は高率に行われているが、臨床講義や臨床実習が行われた比率は低く、これには結核病床をもたない施設が多いことが関連したと思われる。

c) 名古屋市立大学における結核講義の実態

名古屋市立大学では表2のスケジュールで結核の講義が行われているが、講義は最小限度であり、結核病床を持たないため、臨床実習は行われていない。この実態は我が国における結核病床を持たない大学の平均値と思われる。

2) 医育機関の結核関連教科の教授、助教授のうち、少なくとも1人以上が日本結核病学会の会員である率

表3に示すごとくで、内科51%、外科16%、細菌学19%、公衆衛生6%であったが、病理学、小児科学、整形外科、泌尿器学の教授、助教授のうち日本結核病学会会員はいなかった。

3) 日本結核病学会評議員に対する結核講義についてのアンケートの結果

回答率は88%と高率であり、結核病学会評議員の結核教育についての関心の高さを示した。結核病学会評議員で結核講義に関与したものは55%であったが、このうち常勤の教官としてが29%であったのに対して、26%が非常勤講師として結核講義に関与していた。この成績は昭和54年では常勤の教官として29%、非常勤講師として16%であったのに比して、非常勤講師の率が上昇しており、結核講義を学外の専門家にゆだねる傾向がましている。なお、先年、結核病学会教育委員会で医学部の学生が卒業するまでに習得すべき事項を示した「結核症の基礎知識」が結核講義に利用された率は63%に達していた。

4) 結核予防会結核研究所での結核・胸部疾患に関する夏期講座の結果

受講者は昭和52年までは80人内外であったが、53年は50人、54年は20人、55年は44人、56年は36人、57年は22

表 4 我が国における結核教育の問題点とその対策についての提案

問 題 点	対 策
結核の講義は行われているが、結核病棟を持たない大学が多いので臨床実習が極めて少ない。	結核患者を病室単位に収容しうるようにして、少数の結核ベッドを持つようにする。
大学の専任教員に結核病学会会員が少なくなった。	結核病学会評議員の選出方法を改善する。
学生の結核に対する関心が低下している。	医師国家試験に結核を出題するように結核病学会より要望する。
医師の結核に対する関心が低下している。	結核病学会の委員会活動を強化し、結核の重要性、問題点を繰返し強調する。

人、58年は23人、59年は21人、60年は17人と近年やや減少している。

これらの受講者のなかで結核病学会の会員となった率は14/483（2.9％）以上であり（女性の受講者に関しては結婚により姓が変わるので正確な数は得られなかった）、これは全国医師数にたいする結核病学会会員の率の1.4％、昭和58年の医師国家試験合格者に対する同年の結核病学会新入会員の率の2.5％より高く、有効であったと思われた。

2. 卒業後の結核教育の現状

1) 日本医師会医学講座の最近5年間の内容

昭和55年から59年までの5年間に全国で行われた日本医師会医学講座は1,921講座であったがそのうち結核に関するものは11講座（0.6％）で、その内容は最近の結核化学療法に関するものであった。なお、胸部疾患関連の講座は101講座（5.3％）であった。

第 2 部 現場からの提言

1. 療 養 所 病 院 か ら

国立療養所南九州病院 乗 松 克 政

はじめに

患者を診療、収容している現場の立場から見ると、単に教育機関における卒前、卒後の医学教育の在り方への提言のみならず、結核診療に従事する医師、看護婦その他職員への再教育、更には、一般臨床医や地域住民への啓蒙、行政機関に対して、時代に即した諸法規改正の要望等、多くの問題点があげられる。

現場の医師に限ってみても、かつて全人的診療に貴重な存在であった結核専門医は定年を迎えはじめ、若い医

2) T V , ラ ジ オ の 医学番組における結核関連講座の比率

昭和58, 59, 60年の3年間に行われたTV, ラジオの医学番組は合計5,460講座であったが、このうち結核関連講座は13講座（0.2％）であり、その内容は非定型抗酸菌症、結核の免疫、小児結核、肺外結核を含む比較的広範囲なものであった。なお、胸部疾患関連の講座は193講座（3.5％）であった。

結果と考案

以上、我が国における結核教育の現状は上記の如くであり、決して満足しうるものではない。その問題点とそれに対する対策を表4に示したが、これを要するに結核に関係する我々が粘り強い努力を継続する以外にはないと思われる。

師の結核離れで、その獲得も困難な施設が目立って来た。一方、患者の高齢化に伴う合併症の増加や compromised host に発病した結核の診療には、各科の専門医が必要となる。総合病院に結核病棟を併設することが理想ではあるが、結核患者の減少は、現在の医療法の下では管理運営に難渋する。そこで、結核病棟を有する全国の国立療養所、国立病院、公的病院の3グループの施設長にアンケートをお願いし、各施設の実態、将来計画、そして、教育機関や行政機関への要望を頂いた。

表1 結核病棟の現在または近い将来の計画

	国立療養所	国立病院	公的病院	計
病棟の閉鎖、廃止	5 (4.8)	6 (23.1)	16 (16.7)	27 (11.9)
地域調整→最終拠点	48 (45.7)	4 (15.4)	29 (30.2)	81 (35.7)
法改正→病室単位	42 (40.0)	11 (42.3)	40 (41.7)	93 (41.0)
考えていない	3 (2.9)	1 (3.8)	4 (4.2)	8 (3.5)
その他(含未記入)	7 (6.7)	4 (15.4)	7 (7.2)	18 (7.9)
計	105 (100)	26 (100)	96 (100)	227 (100)

() %

表2 結核・合併症診療の医師充足状況

	国立療養所	国立病院	公的病院	計
将来も充分	37 (35.2)	8 (30.8)	44 (45.8)	89 (39.2)
近い将来、見通し暗い	52 (49.5)	10 (38.4)	38 (39.6)	100 (44.0)
現在困っている	11 (10.5)	1 (3.8)	2 (2.1)	14 (6.2)
その他(含未記入)	5 (4.8)	7 (26.9)	12 (12.5)	24 (10.6)
計	105 (100)	26 (100)	96 (100)	227 (100)

() %

対 象

昭和60年10月末現在で、国立療養所105施設(92.9%)、国立病院26施設(92.9%)、公的病院96施設(74.4%)、合計227施設(84.1%)から得られた調査成績を検討した。

成 績

1) 3グループの総数を、運営(実働、訓令)病床数(A)、結核病床数(B)、結核入院患者数(C)に分けてみると、国立療養所で、A. 35,223床、B. 12,746床、B/A. 36.2%、C. 9,365人、C/B. 73.5%と結核の比率がなお高い。国立病院で、A. 9,311床、B. 991床、B/A. 10.6%、C. 660人、C/B. 66.6%、公的病院で、A. 35,678床、B. 6,638床、B/A. 18.6%、C. 4,000人、C/B. 60.3%となる。結核の入院患者総数14,025人は、全国の呼吸器系結核入院患者の約半数に近いと推測される。

2) 入院患者数別に施設を見ると、入院患者が50人未

満で、1個病棟を維持していると考えられる施設は、国立療養所で42施設(40.0%)、国立病院で25施設(96.2%)、公的病院で70施設(72.9%)、全体では137施設(60.4%)あり、50人以上100人未満は49施設(21.6%)、100人以上は41施設(18.0%)認められる。

3) 近い将来、入院患者の減少により、1個病棟、1看護単位が維持出来なくなる時の施設長の将来計画をまとめると(表1)、病棟の閉鎖、廃止は27施設(11.9%)、地域で調整を計り、結核の最終拠点として存続したいは81施設(35.7%)、3グループに共通して顕著なのは、医療法改正により、病棟単位から病室単位への収容の変更を希望するものが93施設(41.0%)にみられる。

4) 結核を含めた呼吸器疾患と、その合併症に対しても十分対応出来る医師の充足状況は(表2)、遠い将来とも医師確保が十分であるとする所は89施設(39.2%)、近い将来は見通しが暗いとする所は100施設(44.0%)、現在すでに困っている所は14施設(6.2%)である。

5) 各施設における医師の結核及び呼吸器に関する教

表 3 教育機関への要望

	国立療養所	国立病院	公的病院	計
大学・研修病院での教育充実	57 (61.3)	12 (80.0)	44 (81.5)	113 (69.8)
専門施設・保健所の役割	29 (31.2)	3 (20.0)	7 (12.9)	39 (24.1)
そ の 他	7 (7.5)		3 (5.6)	10 (6.1)
計	93 (100)	15 (100)	54 (100)	162 (100)

() %

表 4 教育機関への要望内容

大学・研修病院での教育充実	
(1) 結核病棟(病室)……………	確保
(2) 教官・指導者……………	学会員
(3) 講義・臨床指導時間……………	増加
(4) 「結核症の基礎知識」……………	教材
(5) 各種委員会の見解……………	広報
(6) 国家試験……………	必須課目
(7) 専門施設……………	協力依頼
専門施設・保健所の役割	
(1) 実習・研修の場……………	受入・協力
(2) 専門医の活動……………	教育・啓蒙
そ の 他	
(1) 期待していない	
(2) 抗結核薬の開発	

表 5 行政機関への要望

	国立療養所	国立病院	公的病院	計
医療法 予 防 法	83 (58.0)	19 (67.9)	50 (63.3)	152 (60.8)
医師等へ の再教育	39 (27.3)	3 (10.7)	10 (12.7)	52 (20.8)
一般住民 への啓蒙	19 (13.3)	3 (10.7)	9 (11.4)	31 (12.4)
健康保険法	1 (0.7)		8 (10.1)	9 (3.6)
そ の 他	1 (0.7)	3 (10.7)	2 (2.5)	6 (2.4)
計	143 (100)	28 (100)	79 (100)	250 (100)

() %

表 6 行政機関への要望内容

医 療 法:	
(1) 病 床 数……………	地域調整
(2) 病 棟 単 位……………	病室単位
(3) 病 棟 転 換……………	促進
(4) 精 神 病 患 者……………	入院施設
予 防 法:	
(1) 診 査 協 議 会……………	廃止, 集約効率化, 委員の質向上, 指導性, 権限強化
(2) 医 療 基 準……………	見直し
(3) 住 検, 精 検……………	専門病院
(4) 公 費 負 担……………	見直し
(5) 健診, 予防接種……………	批判
(6) 集 団 感 染……………	警告
医師, 保健婦, 看護婦等への再教育	
一般住民への啓蒙	
健康保険法:	
基準看護, 重症者室料 看護特別加算	

育, 啓蒙への関与を見ると, 大学等での講義や臨床指導に当たっている医師が, 少なくとも1人以上いる所は123施設 (54.1%), 地域保健所で結核診査協議会の委員をしている医師が, 少なくとも1人以上いる所は177施設 (78.0%), 地域での症例検討会等を積極的に開催している所は80施設 (35.2%) にみられ, 殊にこれらの施設は, 先述 (表2) の医師の充足が遠い将来とも十分であるとする89施設 (39.2%) とほぼ一致しており, 地域における結核, 呼吸器疾患の中核的病院と考えられる。

要 望 事 項

教育機関, 行政機関への要望を述べた施設は, 教育機関へは145施設 (63.9%) であるが, 行政機関へは169施設 (74.4%) と多くなり, 現場では, 教育問題よりも行政問題への関心が深いことがうかがわれた。

1) 教育機関への要望に関しては (表3, 4), 大学や研修病院での教育充実を希望するものが最も多いが, 結核の専門施設がその教育に協力する必要性も述べている。

2) 行政機関への要望に関しては (表5, 6), 医療

法や結核予防法の改正を希望するものが最も多いが、その中で、結核診査協議会の集約効率化は、昭和60年6月より一部改正されており、また、結核医療基準の見直しも、昭和61年4月より大幅に改正適用されている。

おわりに

昭和30年代最高4,000人をこえた結核病学会会員は、昭和60年には半数に激減し、一方、現在、胸部疾患学会会員は5,000人をこえ、肺癌学会会員も4,500人と年々急増しており、時の流れを感じさせる。

2. 大 学 か ら

京都大学結核胸部疾患研究所内科1 久世文幸

はじめに

強力な化学療法術式の導入とともに、結核が制圧出来る感染症になったことは極めて喜ばしいことであるが、最近1～2年にみられる本邦の結核の罹患状況¹⁾²⁾を見ると、わずかながら活動性肺結核患者の増加傾向がうかがわれ、結核の診療、研究なканずく結核の医学教育は、なお決して軽視出来ない重要な課題である。近年若い医師の結核に対する関心と知識の低下を憂える発言が多いが、これを実際の効果的な提言にするためには、高度な医療体制下に組み込まれた結核の診断、治療の現状を十分に把握する必要がある。

大学における結核教育を考える場合、基礎と臨床の両面での考慮が必要である。結核の基礎研究と言えば誰しも、まず Koch の結核菌に始まる多くの抗酸菌の菌種としての確立、また Koch 現象の解析に始まり、結核の免疫のみならず、他の微生物の感染免疫、癌免疫、移植免疫などを含み大きな学問大系に発展した細胞性免疫と遅延型過敏症の研究、更に宿主との関連における結核発症機構の研究などを思い浮べるであろうが、これらはいずれの主題も、疾患としての結核あるいは抗酸菌症を理解するためには継続して研究の必要³⁾なもののばかりである。基礎研究が提供してくれる知見を、疾患の治療という目標を掲げ、人体という錯綜した体系の中に取り入れるべく試行錯誤をくり返すのが臨床研究であるとすれば、抗酸菌感染症の基礎研究を高いレベルに維持することが、取りも直さず結核の医療、教育のレベル維持にもつながると考えられる。

臨床家として、今後の継続的な基礎研究の発展を期待して、肺癌をはじめ他の多くの呼吸器疾患の診療に緊密に組み込まれた結核の診断、治療という視点から、今後の結核医学教育に参考となると考えられる2, 3の事項を取り上げてみたい。

今後は結核を一般呼吸器感染症の一つとして位置づけ、呼吸器疾患全般を、合併症も含めて診療出来る施設の管理運営を推進すべきであろう。結核病学の医学教育が、教育機関で手抜きなく行われることを心から望むとともに、専門医療機関もその教育に協力することが、政策医療に則った社会的責務であろう。

また、行政機関も結核の疫学、臨床の変遷に応じて、諸法規の改正をはじめとした、きめ細かい対策を早急に確立されることを願うものである。

1. 鑑別診断上の問題点

——特に肺癌との鑑別——

肺結核の鑑別診断に関連し、現在の大きな問題点として肺癌の診断確定までの doctor's delay がある。肺癌患者の30%が医療機関を受診しながら、3カ月以上他疾患として取り扱われ、その中では“肺結核”として治療を受けていたものが最も多かったという報告⁴⁾がある。また健康肺野に孤立して出現した早期癌を不活動性または活動性結核病変として6カ月以上の doctor's delay を来たしていたという報告⁵⁾もある。これらの報告は肺結核診断の側からみれば肺結核の診断確定までの doctor's delay の可能性を示唆すると同時に、肺野に孤立した小結節陰影あるいは小浸潤影に対する胸部レ線写真の診断限界を明らかに示している。肺癌の頻度が低く肺結核の頻度が相対的に極めて高かった時代には、實際上この鑑別の問題点は余り重大視されなかったきらいがあるが、肺癌の増加が顕著な現状では、肺結核症に対する安易な診断は重大な診療上の過失につながることがあり得る。肺結核症の診断特に肺癌との鑑別⁶⁾は特に教育上、現状に即しその重点項目の再確認が必要である。肺野に孤立した病変の出現は、単純な特徴ではあるが、その80%ないし90%において早期肺癌を示している⁵⁾こと、次に直ちに取るべき手段は、現在可能な診断技術を駆使して早期確診を目指すこと、これが第一の重点項目であろう。肺癌専門家にとってはこのことは極めて陳腐なことであるが、本邦の医療全体から見れば、かつて呼吸器疾患の中心にあった肺結核が、現在の肺癌の診断面になお大きく影響を与えていることは事実である。

第二の重点項目は、結核と診断するためには結核菌の分離・同定が必要なことである。この点はすべての専門分野の医師に強調し、今後の教育に当たっても十分強調すべきである。生検などによる病理組織学的診断が必須で

表 1 肺結核の合併症（京大胸部研内 1）

		～20歳	20～29	30～39	40～49	50～59	60～69	70歳～	合 計
合 併 症 (－)	M	1 (1)	10 (1)	16 (3)	11 (2)	14 (3)	4	12 (1)	68 (11)
	F	3 (1)	7 (3)	6	7 (1)	6 (2)	2	4 (1)	35 (8)
糖 尿 病	M			4		7 (2)	1 (1)	1	13 (3)
	F				1	2		2	5
悪 性 腫 瘍	M						4 #	5 * (1)	9 (1)
	F				1 *	1	1	1	4
ステロイド	M			1	2		1 #	2 *	6 (1)
	F		1		1				2
胃 切 除	M					1 (1)	1		2 (1)
	F				2 *				2
出 産 後	F			1 (1)					1 (1)
合 計	M	1 (1)	10 (1)	21 (3)	13 (2)	22 (6)	11 (1)	20 (2)	98 (16)
	F	3 (1)	8 (3)	7 (1)	12 (1)	9 (2)	3	7 (1)	49 (9)

＊，＃，＊の各 1 例は各々同一症例 () 内は臨床診断例

表 2 悪性腫瘍との合併例

1) 悪性腫瘍先行症例	9 例	2) 同時期症例	4 例
乳 癌	2 例	肺 癌	4 例
悪 性 リ ン パ 腫*	1 例		
多 発 性 骨 髄 腫*	1 例		
食 道 癌*	1 例		
前 立 腺 癌*	1 例		
口 腔 底 腫 瘍*	1 例		
胃 癌	1 例		
耳 下 腺 腫 瘍	1 例		

＊ 担癌状態

ある肺癌を疑った精査に、ともすれば抗酸菌の分離を目指した細菌学的検査が欠落し、病理診断のみの疑診に終わっている症例も多く見られる。この重点項目の強調は、鑑別診断の困難な症例のみでなく、肺結核の胸部レ線写真読影の不慣れから生じる診断の遅延を防ぐ効果もある。病理診断のみで結核を診断するにはかなり多くの知識と総合的な判断力が要請されることは強調しておくべきであろう。

以上 2 つの重点項目をまず念頭において、今後若い医師の教育に努めてはどうかと考えている。第一の重点項目はむしろ肺癌診断の問題点を述べたかにみえるが、肺癌をはじめ他疾患と肺結核との真剣な鑑別診断の努力の中で、若い医師が結核診断の困難性、結核病像の多様性を理解し、ひいては肺癌を誤診しない技術を学んでいくなら、「若い医師の結核に対する関心と知識の低下」に

対する一つの治療薬になるのではないかと考えている。鑑別診断上、肺結核の診断に参考となる事柄、即ち病巣の好発部位、陰影の特徴、臨床症状などいずれも重要ではあるが、これらを並列的に理解させるのではなく、感染症としての結核の基本、即ち結核菌の分離・同定という大原則を根底において他の自・他覚所見の柔軟な理解を今後結核教育の基本とすべきであろう。

II. 合併症としての結核

重症の基礎疾患、あるいはこれら基礎疾患に対する高度な医療によって生じる細胞性免疫の低下が要因となって発症する結核の増加が近年の結核医療の形態を徐々に変貌させているようにみえる。表 1 は最近私共の経験した 144 例の肺結核（結核性胸膜を含む）症例の合併症を中心とした内訳である。1/3 弱に何らかの合併症がある

が、注目すべきは13例に悪性腫瘍の合併がみられていることである。表2に悪性腫瘍と肺結核の発症時期について示したが、両疾患が同時に診断されたものが4例あり、これらの症例では、胸部レ線写真などで両疾患合併の事実を端的に示す所見が少なく、注意深い精査が必要であった。その中の1例を提示するが（写真省略）、右肺S²の結核病巣、右B¹とB²入口部と左B⁶入口部の小細胞癌、更に右肺S³の気管支肺炎と多彩な病変を示した症例で、癌病巣は初診時胸部レ線写真では発見できず、胸部CT所見も癌病巣については陰性であった。初診時の喀痰検査は結核菌培養陽性であり、外来で抗結核薬投与を開始したが、血液検査で進行性の貧血が判明し、悪性疾患のスクリーニングの一つとしての気管支鏡検査で悪性腫瘍を証明し得た。なお基礎疾患は再生不良性貧血と診断された。

上記のごとき症例に遭遇すると、肺結核は呼吸器疾患全体の診療の中に緊密に組み入れていかなければ、正しく診療出来ないことを痛感する。今後の教育では結核も肺癌も有機的な関連で診療出来る若い医師の育成がぜひ必要である。

Ⅲ. 諸種抗酸菌症の中の結核

最近の感染症の特徴として日和見感染の増加と感染菌種の多様化が掲げられる。抗酸菌感染症の分野においても、非定型抗酸菌⁷⁾と総称される結核菌以外の多くの抗酸菌種による主として慢性肺感染症が鑑別診断の対象として頃に重要性をおびて来ている。抗酸菌属の中の結核菌の位置づけを明確にすべく、教育の場で抗酸菌の臨床細菌学を重視していくことを主張したい。

Ⅳ. 結核教育の現状

最後に、大学附属病院に関わってみえる内科の先生方を対象とさせて頂き、結核教育の現状につきアンケート形式でお教え頂いたことにつき深く感謝したい。紙面の都合で詳細な御報告は後日することを御了解頂きたい。以下3項目につき御回答の概略を報告したい。60施設からのまとめである。

抗酸菌に関する基礎系の教育については73%の施設が1.5時間から2時間以上の講義をされており、実習面で

84%が抗酸菌に対する何らかの訓練を受けていた。

結核病床⁸⁾については、大学附属病院では年々加速度的に廃止される傾向にあり、結核病床のある施設は現在33%であった。結核病床のない施設での結核教育は種々工夫されているようであるが、臨床講義などは不十分になる傾向がうかがわれた。教育上、また診療上の必要性から結核病床の必要性を強調された回答は多く、比較的小数の病床を効率良く使用されている施設もあった。

大学附属病院細菌検査室における抗酸菌に関する検査範囲では、菌種の同定可能な施設が結核病床の有無で、それぞれ74%、47%で、一般細菌の検査範囲と比較すると不十分で、外注、他施設への依頼を含めてもう少し充実させる必要があると思われた。

おわりに

以上、結核教育について日頃考えている事柄を雑然と述べたが、高度の医育機関が結核診療のあるべき姿を正しく認識し、教育と診療のため結核病床を出来るだけ存続させ、研究機関においても地道な研究者の育成をはかることが、今後の結核教育の進路の正否を決める要であると考えられた。

文 献

- 1) 厚生省保健医療局結核難病課編：結核の統計 1984, 財団法人結核予防会発行, 1984.
- 2) 厚生省保健医療局結核難病課編：結核の統計 1985, 財団法人結核予防会発行, 1985.
- 3) 徳永 徹：結核の免疫学, 結核, 57: 455, 1982.
- 4) 松島敏春他：肺結核として治療された肺癌患者の分析, 結核, 60: 1, 1985.
- 5) 岩崎龍郎：肺癌734例の診断確定までの分析——早期診断の対策樹立の資料として——, 日胸, 42: 461, 1983.
- 6) 岡安大仁他：肺結核症の診断とくに肺癌との鑑別, 臨牀と研究, 59: 2128, 1982.
- 7) 久世文幸：非定型抗酸菌症, 呼吸, 4: 1298, 1985.
- 8) 橋本 修他：当大学病院における結核病床の意義, 結核, 60: 389, 1985.

3. 保健所の立場から

兵庫県立三田保健所 藤 原 節 子

結核とは、一体、何でしょう。

兵庫県の、昭和60年12月末現在の入院患者は、823人で、Ⅰ型25人、Ⅱ型485人、Ⅲ型302人、Ⅳ型11人となっ

ています。

在院年数別にみると、10年以上131人、5年以上10年未満72人、3年以上5年未満62人、1年以上3年未満155人、1年未満403人となっています。

臨床の先生方が、結核であると診断なさいましたら、結核予防法第22条に基づき、2日以内に最寄りの保健所長に届出なければならないとされていますが、その当初あるいは数年以上にわたる治療期間中にも、結核菌が検出されずにいて、投薬が継続され、かつ病状が変化しない症例については、どう考えていけば良いのか戸惑うことがあります。結核菌マイナスの場合の治療方針だとか、治療効果の判定などは、一体どう解釈すれば良いのか判りません。非常に不勉強でお叱りを受けるかも知れませんが、菌マイナスで、レ線フィルムに、肺野に結核様陰影のあるものについて、＜兵庫県で入院153人（18.6％）、通院973人＞果たして、感染源としての扱いが必要なのかどうか、長期にわたって入院させたり、長期の投薬をしたりしていいもののでしょうか。また抄録に示した例のように、28年間の服薬などの結果、当初から現在まで、病型が変わらず、排菌も続いている方もあります。（リファンピシン4年間 657g 内服）

薬物療法は、あくまでもその薬剤を使用することによって、結核菌による結核病変を治癒させるために、選択され使用されていると考えられますが、結核症は治っても、家庭復帰なり、社会復帰なりが出来ないケースの場合、病院に留めておく手段として処方箋を医師が書く筈がないと良心的に考えるならば、結核の完全治癒ということが果たしてあり得るのか、という疑問すら生じます。火傷による瘢痕のため機能障害を残して治癒したので病状が固定した、と同様のことが結核では言えるのでしょうか。公費負担制度の意味合いが、薄れているのではないかと思うわけです。

次に、結核予防は、個人防衛か、社会防衛かということです。社会防衛的観点から、個人を束縛した結果として、地域社会にも受け入れられず、閉め出されて忌み嫌われてきたので、家庭ないし社会復帰が可能であっても、

病院あるいは主治医が責任をとれということになってい
るのではないかと、また、実際、社会復帰の場もない、帰
るべき家庭もない方も、現実に存在するようです。

また結核専門医は、どこで養成されているのでしょうか。結核予防法は、結核という病気の姿を知らないで卒業した医師によっても診断されてしまえば、治療方法がほぼ自動的に決められてしまうのです。

結核診査協議会の委員にも、呼吸器科を標榜する医師は皆無に近く、また兵庫県においても、結核専門病院は統廃合または病床数の減少を余儀なくされ、一方病床は確保されていても、患者が激減したために、空床が目立ち、それをカバーする意味で、「元結核」後遺症のある患者さんがリハビリテーションを受けている、という現実もあるのではないかと……。医療の額分を超えた場面での、真の意味の適切な、元患者さんにとっての、よりよい方策を講じることが急がれると思います。

法に定められた結核診査協議会は、法28条に規定する従業禁止（期間を定めて）、法29条による入所命令（期間を定めて）、法34条の1項による公費負担について診査することになるわけですが、

- 1）結核に罹患しているか否か
- 2）最も適切な治療方法、投薬は何か
- 3）入院、退院の判定
- 4）治癒までの所要期間の判定
- 5）判定結果に基づく診断の通知、指示、連絡を行うために、最高のかつ、適切な委員が望まれる。保健所長としても、しっかり勉強しなくてはならない。他の臨床の諸先生方に、全面的に頼り切っているというのも問題がある。また、場合によっては、委員の先生方に結核病学会に入会して頂かないといけけないのではないかと思います。

医師の生涯教育論議が賑やかな昨今、可能な限りの適

表 1

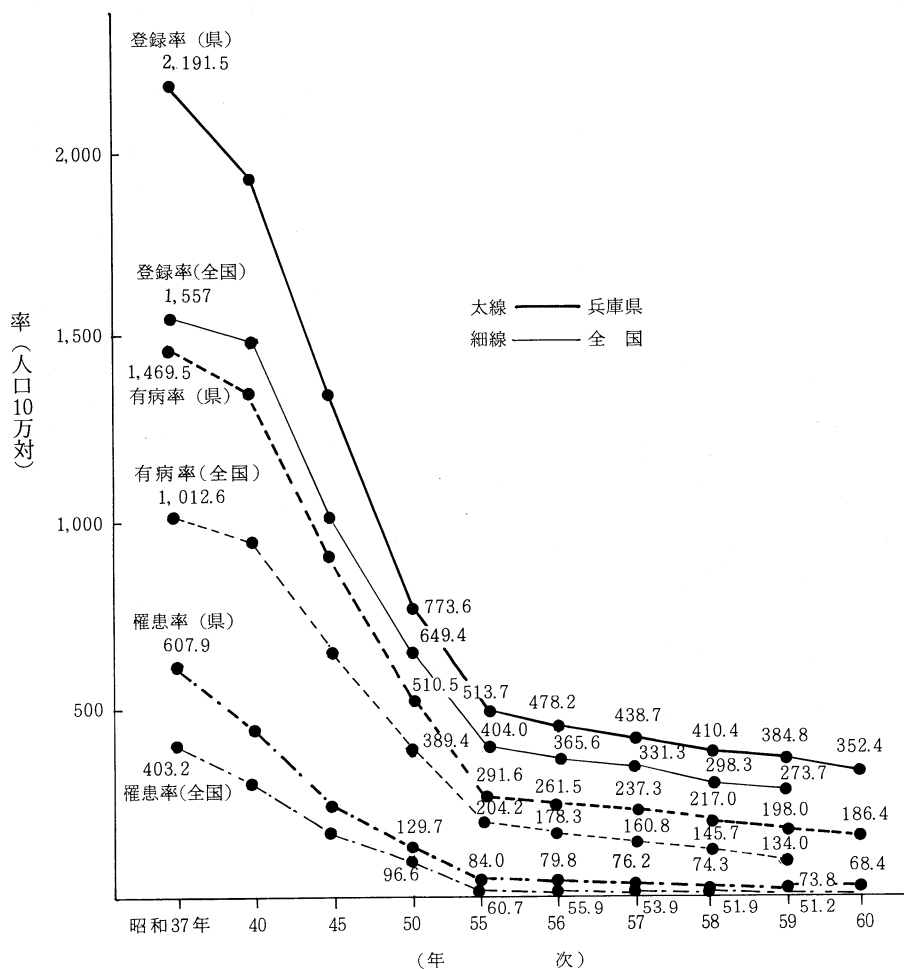
	活動性肺結核		活 動 性 肺外結核	不活動性	不 明	計	新登録
	感染性	非感染性					
0～9歳	2人	62人	10人	85人	0人	159人	69人
10～19	15	116	7	146	1	285	108
20～29	109	376	32	629	19	1,165	291
30～39	174	542	71	909	46	1,742	390
40～49	289	926	82	1,121	83	2,501	499
50～59	438	1,663	129	1,738	63	4,031	680
60～69	412	1,740	81	1,696	43	3,972	665
70歳～	498	2,000	62	2,141	35	4,736	906
不詳	0	0	0	0	0	0	0
計	1,937	7,425	474	8,465	290	18,591	3,608

切な、結核症に対する治療と、リハビリテーションを行うためには、医学生に対しては勿論のこと、現場の医師、なかんずく、診査会の委員に対しての、新しい情報の、時宜を得た伝達と再教育とが不可欠であり、また喫緊の課題ではなからうかと思うわけです。病いとともにその患者の心と、その生活の場を考えた医療を行う時代だと考えます。

保健所から、一寸立場をかえて診査会を見ているので、学会の諸先生方からみれば、大変お聞きづらい点も

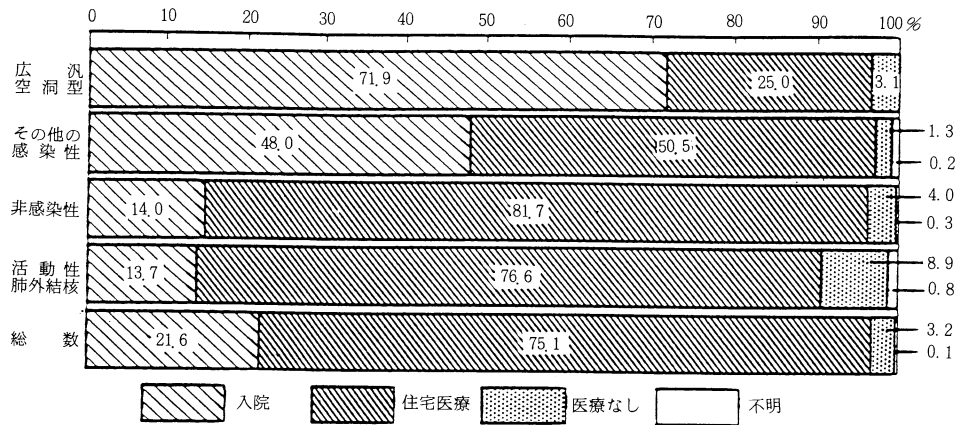
おありだったのではないかと、懸念するところです。疫病として、結核を忌み嫌う風潮が未だ根強い現在、結核の怖さと、同時にまた無知からくるいわれの無い恐れをもつ必要はないということを、一般の人々に啓蒙しつつ、結核予防行政のあるべき姿は何かを、現実には薬剤による治療を行っていない保健所の立場から、ひとこと申し上げました。

付表図として1～4を別に示しましたので、参考にご覧下さい。



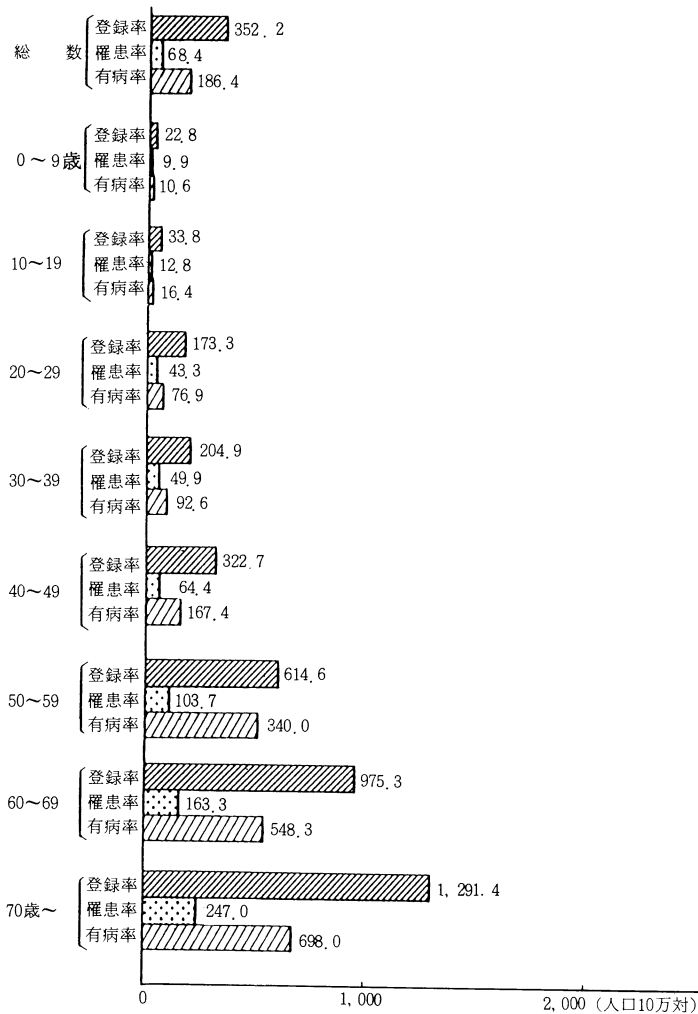
資料：結核登録者に関する定期報告

図2 登録患者の年次別推移(昭和60年末)



資料：結核登録患者に関する定期報告

図 3 活動性結核患者の受療状況（昭和60年末）



資料：結核登録者に関する定期報告

図 4 登録患者の年齢階級別状況（昭和60年末）

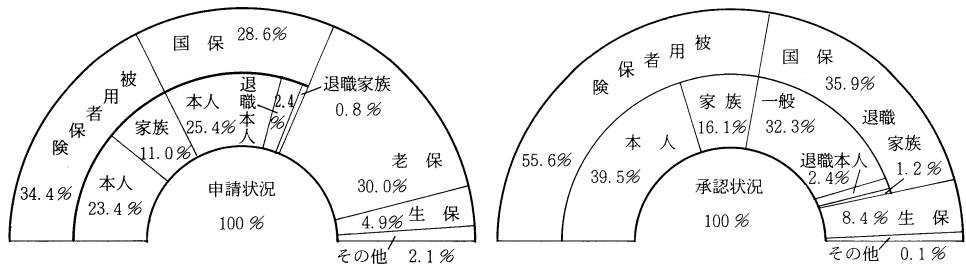


図5 結核医療費公費負担（法第34条関係）の申請承認保険種類別状況（60.1.1～60.12.31）

特別発言

看護の立場から

国立療養所再春荘病院 守田 美代子

はじめに

看護教育の一環として、これからの結核看護はいかにあるべきかについて、当院の看護婦及び結核入院患者の意識調査を行った。

対象及び方法

国立療養所再春荘病院入院結核患者136名、看護婦211名にアンケート調査を行った。

結果

患者より回答の得られたのは表1の如く131例（96％）で、男子89例、女子42例であった。回答者の年齢構成は、40歳以上が112例（85％）、うち60歳以上は63例（48％）で約半数は高齢者であった。入院期間は、1年未満64例（50％）、1～3年未満15例（11％）、3年以上52例（39％）であり、短期入院になったとは言え、未だ1/3以上は、3年以上の入院患者であった。抗結核薬の服用については、図1の如く正しい服薬を行っている人は77％で、服薬の指導は、看護婦78％、医師22％より受けたと回答した。安静については図2に示す如く92％の人が必要と答え、安静時間は、1日3時間以上が必要と答えた人は56％もあり、当院の患者においては、未だ安静時間は、長い方がよいという意識の人が多かった。マスクの使用については、使用する人が80％、使用しない人が20％であった。

次に、外出、外泊については、外泊をしている人は63％であり、その際、痰の始末は、紙による始末50％であり、処理していない人は7％であった。食器については、

専用の食器を用いている人31％であり、38％は特別、専用を決めていなかった。寝具についても専用30％、専用なし28％であり、約1/3の人は食器、寝具の区別に関心であった。

表1 患者背景因子

I. 対象者 131例（回答率96％）
II. 年齢別

	男	女	合計
0～40歳	14	5	19 (15%)
41～60	33	16	49 (37%)
61歳～	42	21	63 (48%)
計	89	42	131 (100%)

III. 在院期間別

	男	女	合計
～1年	44	20	64 (49%)
1～3	10	5	15 (11%)
3年～	35	17	52 (40%)

次に、看護婦についてのアンケートの成績を表2に示す。対象211例中回答した人は209人で、回答率は99％であった。結核病棟経験年数は、1年未満38％、10年以上は19％であった。安静については図3の如く、94％が必要と認め、1日3時間以上必要と認めた人が54％もあり、

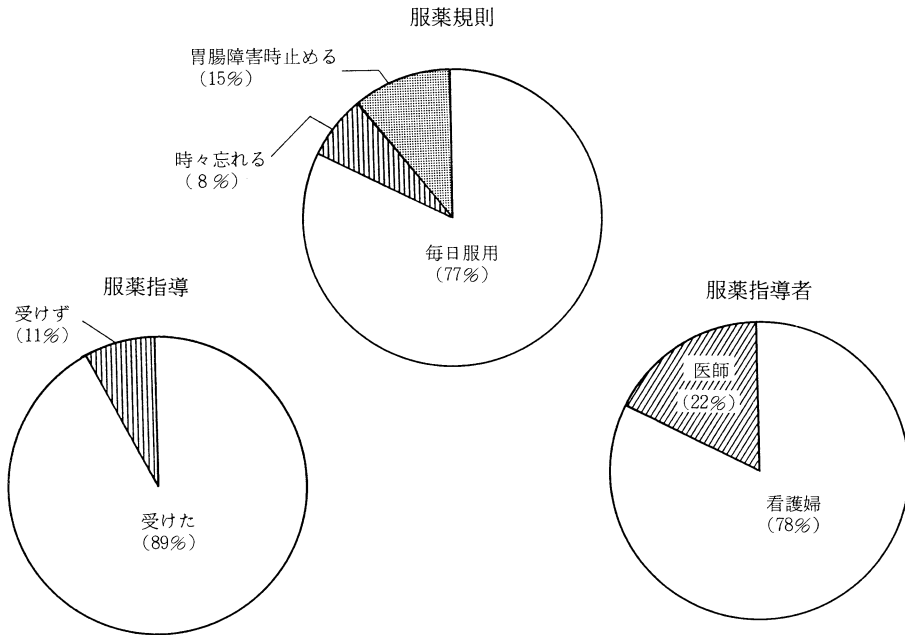


図 1 服 薬 習 慣

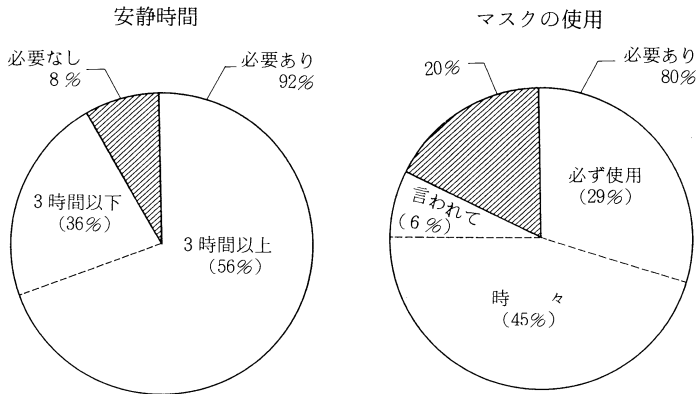


図 2 患 者 の 回 答

患者と同様に安静時間は長い方がよいと考えている傾向にあった。入院期間は初回治療では、菌陰転化後 6 カ月が適当と答えた人は 43% であり、この欄に回答しなかった人は 24% もあり、これは、殆どが、結核病棟経験 1 年未満の人であった。再治療においては、菌陰転化後 6 カ月が適当と答えた人は 20%、12 カ月が適当と答えた人は 23% であり、この欄に回答しなかった人は 39% で、これも殆どが、結核病棟経験 1 年未満の人であった。

次にツ反応と BCG についての意識調査では図 4 の如く、経験の有無にかかわらず、ツ反応の必要を認めた人は 81%、ツ反陰性の時の BCG 接種の必要を認めた人は 77% であった。

考 案

当院においては、採用時ツ反陰性の人には全員 BCG 接種を義務づけ、更に服薬、予防等を含め、結核に関する看護教育を時々行っているもの上記の如きアンケート結果が得られたことは、最近の結核に対する知識に比し、立ち遅れている現状がみられた。これらを要約すると、

1) 現在、規則正しい服薬が最重要事項であるのは周知のことであるが、23% の患者が不規則な服薬を行っていたことは、服薬を指導すべき医師及び看護婦に、更に徹底すべきと思われた。

表 2 看護婦のアンケート

I. 対象者 209 例 (回答率 99 %)

II. 結核病棟勤務経験年数

年	～ 1 年	1～10年	10 年 ～	総 計
例 数	80	89	40	209
%	38	43	19	100

2) 安静については、最近、安静時間は不必要との傾向にあるが、今回、患者92%，看護婦94%が必要と認め、更に患者の56%が3時間以上の必要性を認めた。排菌がなく、症状が安定しても、経済的及び社会的な都合で退院出来ない患者に、安静時間を設けるのは問題であるが、当院では検温や臨床症状の定期的 check などのため、未だ安静時間を設けているが、少なくとも、看護教育に

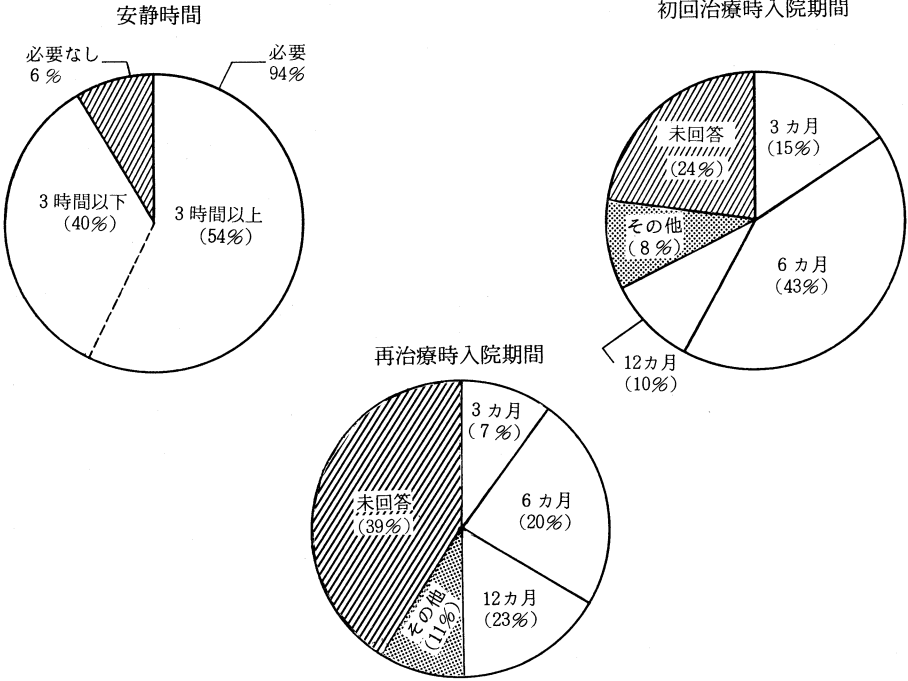


図 3 看護婦の回答

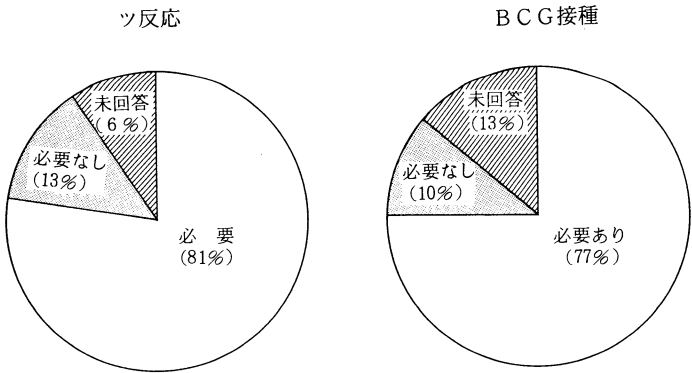


図 4 予防及び感染防止

おいては、安静時間の重要性は低下したことを認識させたい。

3) 感染防御についての意識は看護婦、患者ともに薄れて来たが、ツ反応陰性者にはBCG接種の勵行とともに、予防及び感染防止を再認識させたい。

4) 入院期間についての看護婦の見解の不一致は結核に

対する関心の低下とともに医師の結核に対する考え方の相違が看護婦に反映していると思われた。最近では、看護教育の中で結核の時間が少なくなっているが、大きく変化した結核治療の新基準に従って、もう一度、看護教育を再検討する時期に来ていると思う。

第61回総会シンポジウム

IV. 結核菌菌体成分の免疫

座長 東 市 郎 (北海道大学免疫科学研究所)

受付 昭和61年8月14日

The 61st Annual Meeting Symposium

IV. IMMUNOLOGICAL ACTIVITY OF THE COMPONENTS OF TUBERCLE BACILLI

Chairman : Ichiro AZUMA *

(Received for publication August 4, 1986)

The cellular components of tubercle bacilli have been well recognized to have a variety of biological and immunological activities. In this symposium, recent advance in the studies of immunological activities of trehalose dimycolate (TDM) analogs, tuberculin protein, mycobacterial DNA and N-acetylmuramyl dipeptide (MDP) were reviewed and discussed.

Azuma and Numata have chemically synthesized TDM analogs and investigated the biological properties such as lethal toxicity and peritoneal macrophage activation in mice. Among these synthetic TDM analogs and related compounds, compound TDNM which is the 6, 6'-diamino derivative of TDM was shown to be less toxic in mice and to have more potent adjuvant activity compared to those of TDM. The structure-activity relationship of synthetic TDM analogs was also discussed.

Yano has described the purification and chemical analysis of TDM and related compounds from the lipid fraction of *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Rhodococcus* and *Gordona*. It was reported that the granuloma-formation activity of TDM analogs containing 2 or 3 moles of mycolic acid residue was more potent than that of TDM analogs having 1 or 4 moles of mycolic acid residue in the TDM molecule.

Nagai has purified 4 kinds of tuberculin-active proteins (MPB-59, -64, -70 and -80) from unheated culture filtrate of *M. bovis* BCG (Tokyo 172) and their biochemical and immunological properties were examined.

Yamamoto et al. have discussed the efficacy of DNA fraction (MY-1) on the cancer immunotherapy. Intralésional injection of MY-1 showed potent tumor regressive activity in IMC, Meth A, B16, S1509a, MM46 and line 10 in syngeneic mice and guinea pigs. The macrophage activation with MY-1 was also observed.

Ishihara has demonstrated that stearyl derivatives of N-acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamine (MDP), L18-MDP and MDP-Lys-L18, were effective for the nonspecific stimulation of the host resistance against opportunistic infection with *Corynebacterium kutscheri* in immunodepressed mice and against Sendai virus infection in mice.

* From the Institute of Immunological Science, Hokkaido University Sapporo 060 Japan.

はじめに

従来より結核菌及び菌体成分が特異な免疫活性を有することが明らかにされており、特に細胞壁、ツベルクリン蛋白、磷脂質、ロウD、コードファクター、多糖画分が抗原として、あるいは免疫アジュバントとして基礎的にも臨床応用の面からも精力的な研究が行われ、総会シンポジウムの課題としてしばしば取り上げられた。

本総会において、結核菌菌体成分のうち近年注目されているコードファクター（トレハロースマイコレート、TDM）、ツベルクリン蛋白、DNA 及び細胞壁のアジュバント活性最小構造単位であるムラミルジペプチド

(MDP) に焦点をあて、その生化学的性状と免疫活性について最近の進歩を総括する。

これら菌体成分のうちツベルクリン蛋白は結核菌抗原として長い歴史を有するが、近年に至りその一部の精製が進み生化学的性状が明らかにされた。TDM, DNA, MDP は強い免疫アジュバント活性を有し、生体の防御機構の活性化に有用であり、細胞壁とともに癌、感染症への臨床応用の可能性に期待が寄せられている。本シンポジウムにおいて結核菌菌体成分の生化学と免疫活性に関する研究の現状が明らかにされ、将来への可能性を探る一助となれば幸いである。

1. ミコール酸含有糖脂質の構造と免疫活性

a) 菌体糖脂質

大阪市立大学医学部細菌学教室 矢 野 郁 也

はじめに

Mycobacterium や *Nocardia*, *Rhodococcus* 等の *Actinomycetes* に属する細菌細胞壁の最も大きな特徴は、天然では疎水性の極めて強い長鎖脂肪酸であるミコール酸を含む点である^{1)~4)}。これらの細胞壁脂質成分は、抗酸菌表層の物理化学的性質（抗酸性や疎水性）を特徴づけているばかりでなく⁵⁾、免疫薬理学的にも、アジュバント活性⁶⁾、肉芽腫形成能⁷⁾、マクロファージ活性化能、抗腫瘍性⁸⁾ 等種々の生理活性を有しているが、一方ではまた *mycobacteria* の cord factor のようにマウスに致死毒性を示す成分も含まれている。cord factor は、かつて人型結核菌の産生する毒性糖脂質としてその病原性との深い関わり合いが注目されたが⁹⁾、実際にはヒトに病原性を持たない多数の *Mycobacterium* 菌種はもちろんのこと、*Nocardia* や *Rhodococcus* 等の土壌細菌細胞壁にも広く分布することが明らかとなつて、毒性よりもむしろ免疫反応と関連した各種生理活性の解析に好適な材料と考えられつつある^{6)~8)}。そこで我々は、*Mycobacterium* は勿論、*Nocardia* や *Rhodococcus* 及び *Gordona* 等互いに近縁の各種放線菌のミコール酸含有糖脂質の分布を明らかに^{10)~13)}、cord factor やそれと類似の各種糖脂質を単離して、構造解析を行い、親水性及び疎水性部分の構造を明らかにするとともに、それらが免疫反応にどのように寄与しているかを、主としてマウス及びラットにおける肉芽腫形成能を中心に検討してきたのでこれらについて報告する。

材料及び方法

Mycobacterium の迅速発育菌、*Nocardia* 及び

Rhodococcus の各菌は、1 % glucose を含む PGY 培地 (pH 7.0) に30℃、48~120時間振とう培養し、得られた菌体から、20培量のクロロホルム、メタノール (2 : 1, v/v) を用いて脂質を抽出した。各脂質の分離は、Silicagel の薄層クロマトグラフィーを用いて行い、クロロホルム・メタノール・アセトン・酢酸 (90 : 10 : 6 : 1, v/v) により展開して糖脂質を単離した。TLC 上の脂質は、ヨード発色後、ゲルより回収し、単一スポットとなるまで精製し純化した後、各種分析及び生理活性の解析に供した。ミコール酸の分析は GC/MS (日立、M-80 B 型質量分析計) を用いて行い、2 %OV-101, 3 mm × 0.4 m のガラスカラムを200~330℃で使用した^{14)~16)}。また各糖脂質の糖部分の解析は、メタノリシス後得られる単糖のメチルグリコシドの TMS 誘導体の分析により、また oligosacchaside はアルカリ水解後得られた糖の TMS 誘導体の GC/MS 分析によって行った。マウス肺肉芽腫形成能は、ICR 系マウス (♂, 20g) を用いて調べ、Freund の不完全アジュバント存在下に w/o/w ミセルを調製し、一匹当たり100~300 µg の糖脂質を尾静脈より注入し、1~4 週後の肺及び脾、肝重量から Lung, Spleen 及び Liver index を算出した (Index = $\frac{\text{臓器重量} \times 100}{\text{体重}}$)。また、各臓器の Hema-toxylin-Eosine 染色により組織学的所見を観察し、一部は超薄切片を作製し、光顕及び電顕レベルで肉芽腫の生成を確認した^{11)~17)}。

結 果

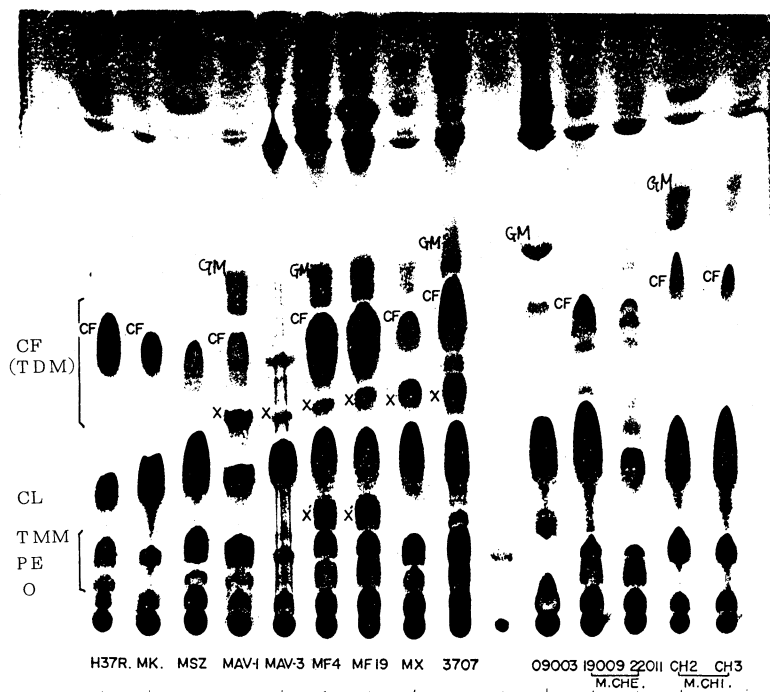
1) *Mycobacterium* 属のミコール酸含有糖脂質 : slowly growing 及び rapidly growing に属する *Mycobacterium* 属の各菌種は、一般にミコール酸含

有糖脂質として trehalose dimycolate (cord factor, TDM と略) 及び trehalose monomycolate (TMM と略) を主成分として含むが、迅速発育菌ではこれら以外に glucose mycolate (GM と略) が含まれ、TLC 上ミコール酸含有糖脂質が3種以上存在するのが普通である。これらの糖脂質のミコール酸は、菌種により subclass 組成が異なるのみならず、炭素数も異なり、 C_{72} 辺りが中心のもの (*M. diernhoferii*) から C_{74} が中心となるもの (*M. aurum* 等), C_{76} 辺りが中心のもの (*M. fortuitum* 等), C_{80} 辺りが中心となるもの (*M. avium*, *M. bovis* 及び *M. tuberculosis*) 等極めて多様性に富んでいる。またこのために TDM や TMM はそれぞれ TLC 上2つ以上のスポットに分れることがあり、極めて不均一な様相を呈する (図1)。更に菌種によっては、*M. fortuitum* のように TDM や TMM 以外にミコール酸以外の脂肪酸 (パルミチン酸等)

を構成成分とする trehalose monomycolate や trehalose dipalmitate が存在し、菌種によって特徴的なパターンが認められる。これらの C_{70} 以上のミコール酸を含む糖脂質はマウス及びラットに静注した場合、肺・脾及び肝臓に強い肉芽腫形成能を示し (図2), その組織学的所見は結核菌感染による類上皮細胞性肉芽腫によく類似していた。特にラットにおいては、糖脂質単独でラングハンス型の多核巨細胞が出現するのが特徴で、マウスにおいては単核細胞、異物性巨細胞及び赤芽球等が現れ、造血系に対する強い刺激反応を有することも明らかとなった。また C_{60} 以上のミコール酸を構成成分とする TDM はマウスに対して強い毒性を示し、 $100\mu\text{g} \times 5$ 回 i.p. 投与によりマウスは10~14日以内に死亡した。

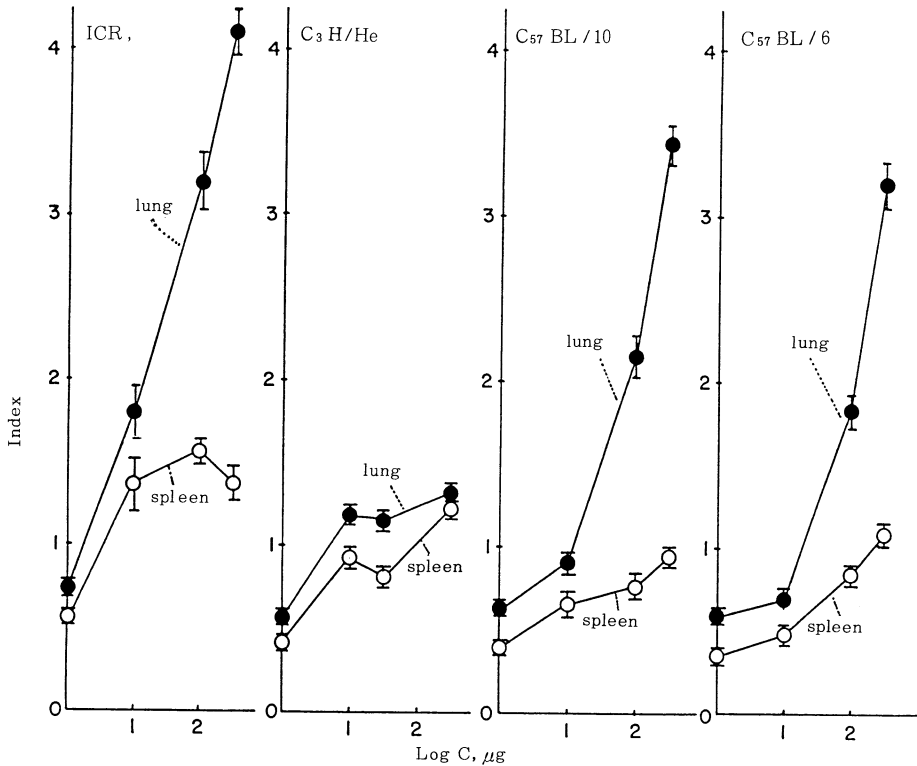
2) *Rhodococcus* subcluster I A 群の糖脂質:

N. rubra M-1 や *N. opaca*, *N. corallina*,



媒性: クロロホルム・メタノール・アセトン・酢酸 (90:10:6:1, v/v); 左から: *M. tuberculosis* H₃₇Rv, *M. kansasii* (MK), *M. szulgai* (SZ), *M. avium* (MAV-1), *M. avium* (MAV-3), *M. fortuitum* (MF4), *M. fortuitum* (MF19), Unknorn (MX), Unidentified (3707), *H. agri* (09003) *M. chelonae* (19009 & 22011) and *M. chitae* (CH₂ & CH₃); CF (TDM) = cord factor (trehalose-6,6'-dimycolate); TMM = trehalose-6-monomycolate; GM = glucose mycolate

図1. 各種 *Mycobacterium* 抽出脂質の薄層クロマトグラム



ICR, C₅₇BL/6, C₅₇BL/10系 (high responder) 及び C₃H/He系 (low responder) マウスにおける肉芽腫形成。

図2 BCG cord factor による各種マウス系統における肉芽腫形成

R. rhodochrous, *R. sp.* IFO 13165, *R. sp.* IFO 13161 等の菌株の糖脂質は、一般に C₃₀~50 前後のやや短鎖のミコール酸を含み、その糖脂質は glucose mycolate (GM), TDM 及び TMM が主であった (図3)。これらのうち C₄₀ 以上の長鎖のミコール酸を含有する *N. rubra* や *N. opaca*, *R. sp.* IFO 13161 の各菌の GM 及び TDM にはいずれも明らかな肉芽腫形成能が認められた (図4)。これに対して C₃₀ ミコール酸を構成成分とする *R. sp.* IFO 13165 菌の GM には殆んど肉芽腫形成能が認められなかった。またこれらの糖脂質の肉芽腫形成能を経時的に追跡すると、肺では7日後に index が最高に達し、以後急減するのに対し、脾臓では1~3週間にわたって index の高値が持続し、肝では2週以後に高値が示される等、各臓器により明らかな反応性の差が認められた (図5)。

3) *Rhodococcus* subcluster IC 群の糖脂質:

R. rubropertinctus, *R. terrae* 等 subcluster IC 群の菌種は、糖脂質組成が複雑で、TDM や GM の他これらより Rf 値の高い (極性の低い) 未知のミコール

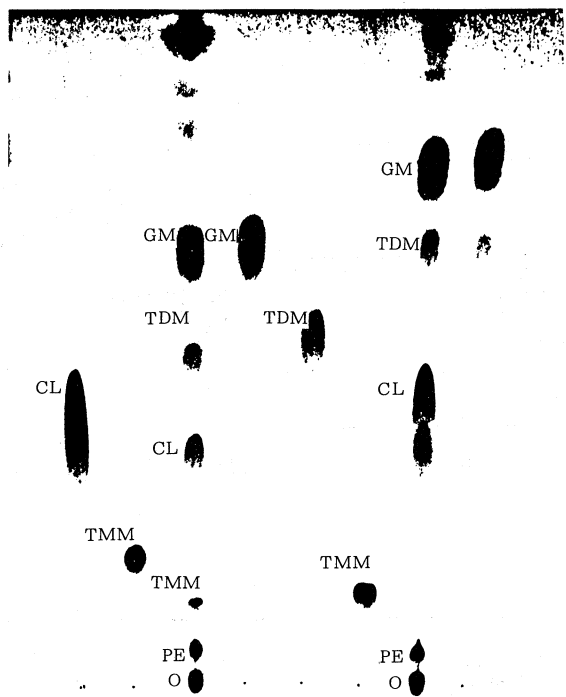
酸含有糖脂質を含んでいた。これらの菌は一般にミコール酸組成も複雑で、C₅₄~62 triene~tetraene ミコール酸を主成分とする中性糖脂質は、いずれも強力な肉芽腫形成能を示した (図6)。特に *R. terrae* 70012 株の C₅₈ ミコール酸含有 TDM は、強い肉芽腫形成能を示すとともにマウスに顕著な毒性を示した。同様に *N. Polychromogenes* の C₆₂ ミコール酸含有 TDM が強力な肉芽腫形成能を示したにも拘らず、本菌の産生する TDM と Rf 値の近接した未知の酸性糖脂質は全く肉芽腫形成能を示さず親水性部分の構造も肉芽腫形成に深く関与していることが示唆された (図7)。

4) 新しいミコール酸含有天然糖脂質:

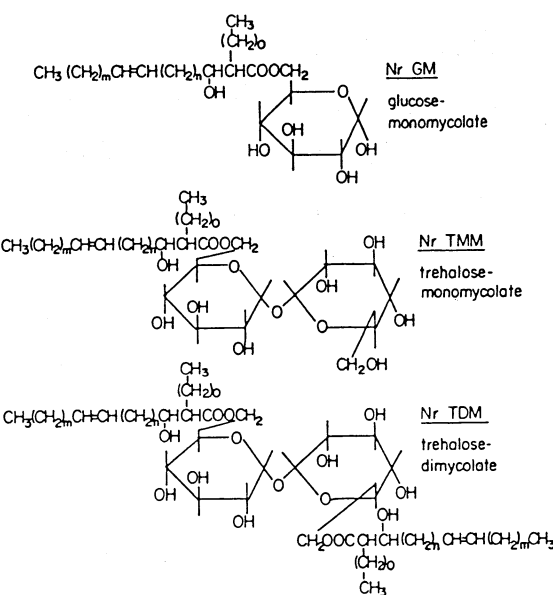
N. rubra-M-1 株を炭素源をかえて培養したときに得られる種々の糖脂質のうち、mannose mycolate, arabinose mycolate 及び fructose mycolate を単離し、これらを glucose mycolate や trehalose dimycolate と比較したところ、ミコール酸の分子種組成はほぼ同一であったにもかかわらず、肉芽腫形成能は極めて弱かった (図8)。また好低温性抗酸菌である *Gordona*

aurantiaca から得られた新しい糖脂質である trehalose trimycolate¹⁸⁾ は、TDM とほぼ同様の肉芽腫形成能を示したが、同じ菌から得られる trehalose

monomycolate や trehalose tetramycolate (推定) は肉芽腫形成能が低かった。



CL TMM N, rub NrGM, NrTDM. TMM, R, ter Rt GM



GM: glucose mycolate, TDM: trehalose dimycolate

図3 *N. rubra*-M・1株の糖脂質と薄層クロマトグラム (溶媒, 図1と同じ)

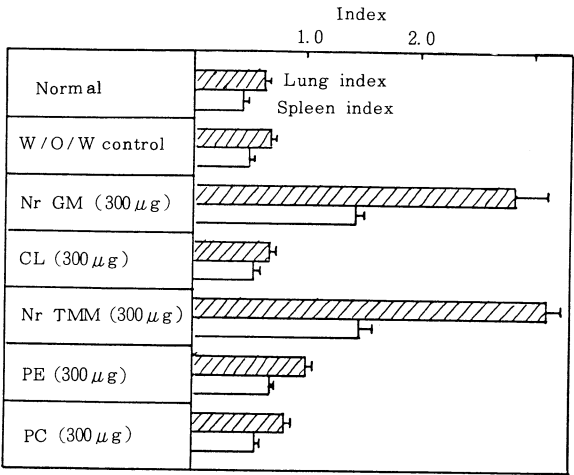


図 4 *N. rubra* 糖脂質による肉芽腫形成

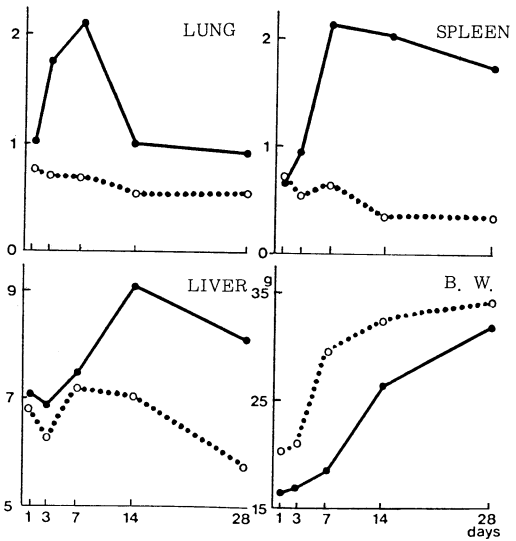
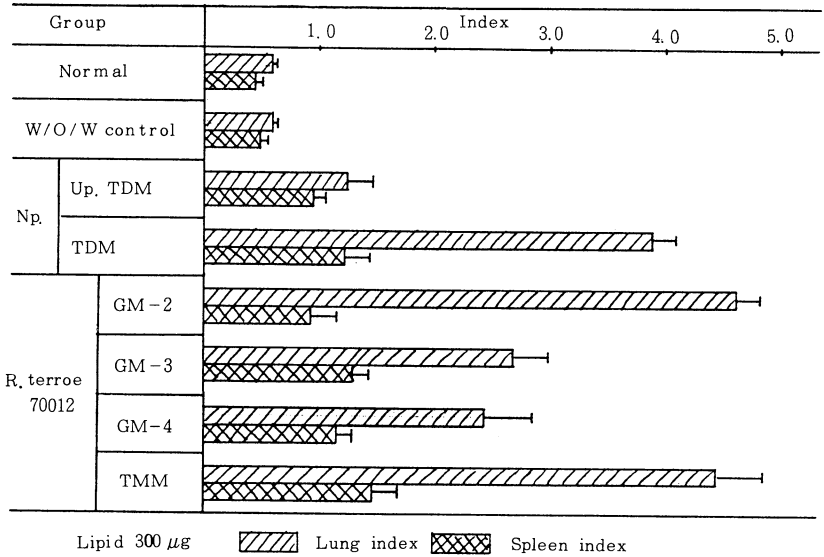


図 5 *N. rubra*. TDMによるマウス肉芽腫形成の time course



Lipid 300 μg Lung index Spleen index

TDM 及び GM-4 : trehalose : 6.6' dimycolate

図 6 *Rhodococcus terrae* 70012 及び *N. polychromogenes* (Np) より単離した TDM 及び類似糖脂質によるマウス肉芽腫形成

考察とまとめ

以上の結果から、*Mycobacterium* とその近縁放線菌 *Nocardia* や *Rhodococcus* 及び *Gordona* には、

C 30 から C 80 に及ぶ広範囲なミコール酸を構成成分とする糖脂質が存在し、その免疫薬理学的生理活性は構造に応じて大きく変化することが明らかとなった。特にマウスに対しては炭素数40以上のミコール酸残基を1つ以

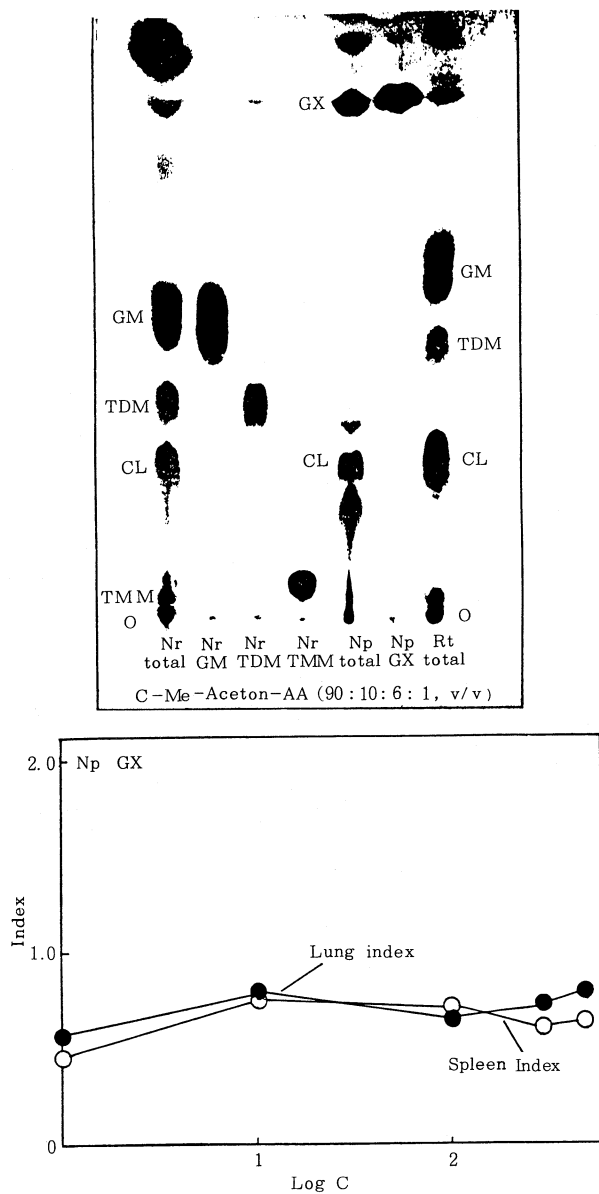
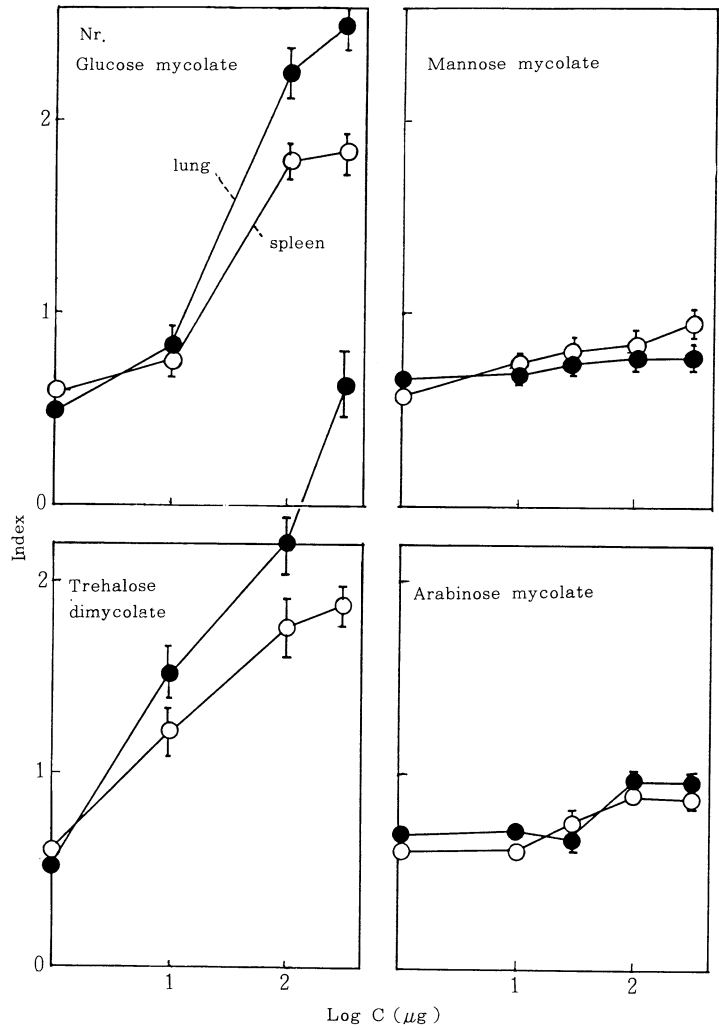


図7 *N. polychromogenes* の酸性糖脂質 (Np GX) の薄層クロマトグラムとマウス肉芽腫形成能



Mannose mycolate, Arabinose mycolate, Glucose mycolate
及び Trehalose mycolate のマウス肉芽腫形成能

図 8 *N. rubra* の産生する新しい天然糖脂質

上含む中性糖脂質でグルコースやトレハロースが糖部分として含まれる糖脂質が強力な肉芽腫形成能を有すること、またミコール酸残基が2つまたは3つのものが、1または4個のエステルと比べてより高い活性を有することも明らかとなった。従来ミコール酸含有糖脂質の生理活性は、ミコール酸部分の構造特異性（強い疎水性）にのみ依存していると考えられていたが親水基（糖部分）の構造もこれらに密接に関与していることが明らかで肉芽腫形成機構を考慮するに際して興味深い。またこのようにミコール酸の炭素数やアシル基の数、及び糖部分が入れ替わったとき、致死毒性にも変化が認められることから、天然ミコール酸含有糖脂質の中にもアジュバント物質や抗腫瘍性物質として有用な Biological Response Modifier が見出される可能性があり、系統的な解析を行いたいと考えている。

文 献

- Asselineau, J. : In "The Bacterial Lipids" Hermann, Paris, 1966.
- Lederer, E. : Glycolipids of mycobacteria and related microorganisms, Chem Phys Lipids, 1 : 294, 1967.
- Goren, M. B. : Mycobacterial lipids : Selected topics, Bacteriol Rev, 36 : 33, 1972.
- Asselineau, C. and Asselineau, J. : Trehalose-containing glycolipids, Progress in the chemistry of fats and other lipids, 16 : 59, 1978.
- Barksdale, L. and Kim, K-S. : Mycobacterium, Bacteriological Reviews, 41 : 217, 1977.
- Lederer, E. et al. : Cell walls of mycobacteria and related organisms : Chemistry and immunostimulant properties, Mol Cell Biochem, 7 : 87, 1975.
- Bekierkunst, A. et al. : Granuloma formation induced in mice by chemically defined mycobacterial fractions, J Bacteriol, 100 : 95, 1969.
- Bakierkunst, A. et al. : Immunotherapy of cancer with nonliving BCG and fractions derived from Mycobacteria : Role of cord factor (trehalose-6, 6'-dimycolate) in tumor regression, Infect Immun, 10 : 1044, 1974.
- Bloch, H. : Studies on the virulence of tubercle bacilli, Isolation and biological properties of a constituent of virulent organisms, J Exp Med, 91 : 197-217, 1950.
- Yano, I. et al. : Occurrence of acylated trehaloses in Nocardia, J Gen Appl Microbiol, 17 : 329, 1971.
- Yano, I. et al. : Granuloma forming activity of mycolic acid-containing glycolipids in nocardia and related taxa, Acta Leprologica, 95 : 341, 1984.
- 権平 栄他 : Nocardia 及び Rhodococcus 属ミコール酸含有糖脂質の肉芽腫形成能と構造特異性, 日本薬学雑誌 (投稿中).
- Yano, I. et al. : Structure analysis of and granuloma formation by the new types of glycolipids containing mycolic acids in Nocardia, Rhodococcus and related actinomycetes. The 20th Joint Conference on Tuberculosis (The U. S.-Japan cooperative medical science program) p.50, 1985.
- Yano, I. et al. : Separation and analysis of molecular species of mycolic acids in Nocardia and related taxa by gas chromatography mass spectrometry, Biomed Mass Spectrom, 5 : 14, 1978.
- Toriyama, S. et al. : Separation of C₅₀₋₆₀ and C₇₀₋₈₀ mycolic acid molecular species and their changes by growth temperature in *Mycobacterium phlei*, FEBS LETTERS, 95 : 111, 1978.
- Tomiyasu, I. and Yano, I. : Separation and analysis of novel polyunsaturated mycolic acids from a psychrophilic, acid-fast bacterium, *Gordona aurantiaca* ; Eur J Biochem, 139 : 173, 1984.
- Kaneda, K. et al. : Kupfer cell-pitcell contact and granuloma formation in the liver by mycolic acid-containing glycolipids from *Nocardia rubra* in "Cells of the Hepatic Sinusoid, vol. 1" (Kirn, A. et al. eds. kupfer cell Foundation) p.421, 1986.
- Tomiyasu, I. et al. : Occurrence of a novel glycolipid, "trehalose-2, 3, 6'-trimycolate" in a psychrophilic, acid-fast bacterium, *Rhodococcus aurantiacus* (*Gordona aurantiaca*), FEBS LETTERS (in press), 1986.

b) 合成コードファクター（TDM）類の免疫活性

北海道大学免疫科学研究所 東 市 郎
沼 田 文 男

はじめに

コードファクター（TDM）は、当初、マウスに対する毒性を指標として結核菌脂質画分から精製された糖脂質であるが、その後 TDM のさまざまな生物活性（表 1）が明らかにされた。化学構造と生物活性の相関については、主に毒性を中心に検討がなされ、近年その他の生物

活性に関しても検討が行われつつあるが、必ずしも充分なものではなく、合成研究による構造・活性相関の明確化が待たれている。我々は、化学合成した TDM 関連化合物を用いて、マウスに対する致死毒性及びマウス腹腔マクロファージに対する活性化能を検討し、活性発現に必須な化学構造についての知見を得るとともに、更に抗腫瘍活性発現に応用を試み、有効なアジュバント開発の可能性を探った。

表 1 TDM の生物活性

1. マウスに対する致死活性
2. 内毒素に対する宿主感受性の増強
3. 免疫増強活性
4. 原虫、細菌などに対する宿主の非特異的感染抵抗性の増強
5. 抗腫瘍活性
6. BCG-CWS, MDP, リピド A の抗腫瘍活性に対する相乗的増強

1) 化学構造

コードファクター（TDM）の構造は、トレハロースの 6, 6' 位の水酸基に、結核菌に特有な脂肪酸であるミコール酸が 2 分子エステル結合した Trehalose-6, 6'-dimycolate（図 1）である。ミコール酸は α 位に分枝鎖を、 β 位に水酸基を有する超高級脂肪酸である。我々は図 2、図 3 に示す合成 TDM 関連化合物を用いて以下の検討を行った。

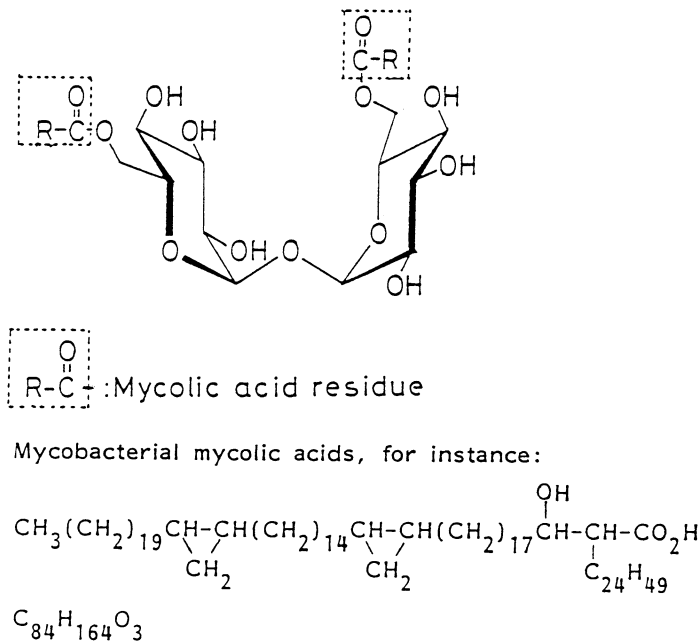


図 1 コードファクター（TDM）の構造

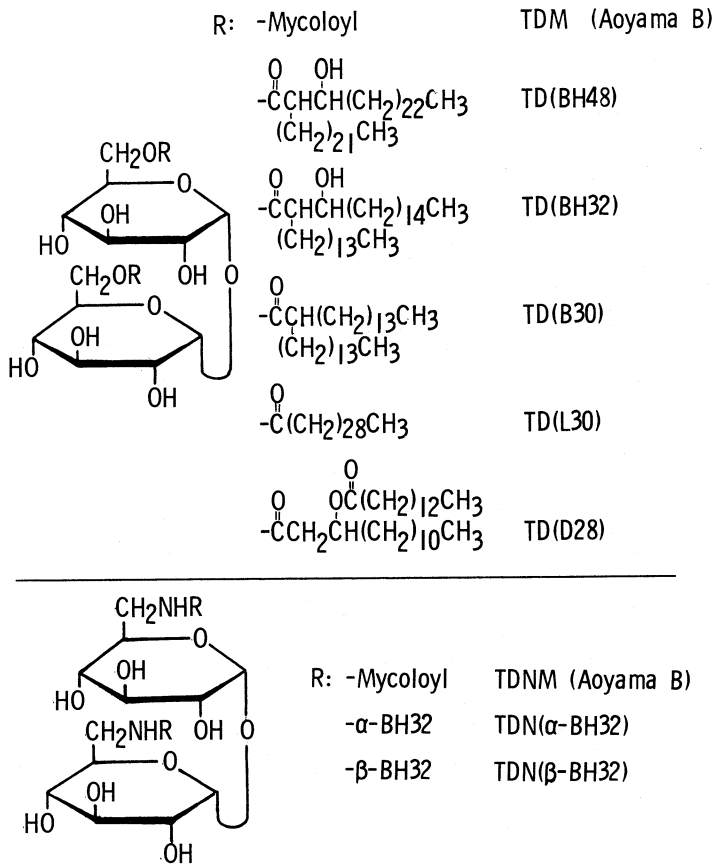
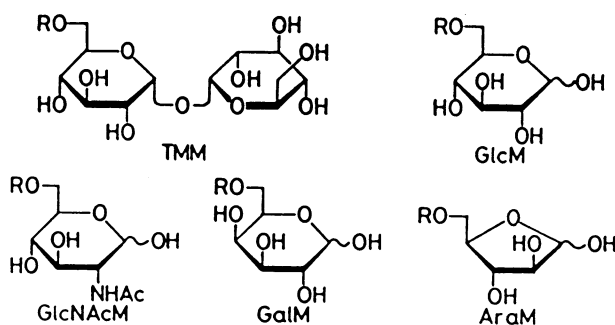


図 2 合成 TDM 類縁体の化学構造

表 2 合成 TDM 関連化合物の生物活性

	致死毒性 (死亡率)		マクロファージ活性化		抗腫瘍活性 (acyl-M DPと併用)
	150μg 投与	400 μg 投与	Suspension in saline	O / W emulsion	
TDM(Peuois)	9 / 10		+	+	+
TDM(Aoyama B)	8 / 10	10 / 10	+	+	+
TD(BH48)	0 / 10		+	+	
TD(BH32)	0 / 10	0 / 10	+	+	-
TD(B30)	0 / 10		+	+	-
TD(L30)	1 / 10		+	-	-
TD(D28)	0 / 10		-	-	
TMM	0 / 10	8 / 8	+	+	
Glc M	0 / 10	2 / 8	+	+	
GlcNAc M		1 / 8	+		
Gal M		2 / 8	-		
Ara M	0 / 10	0 / 10	-	-	
TDNM	2 / 10	4 / 10	+	+	+
TDN(α-BH32)		0 / 10	+		
TDN(β-BH32)		0 / 10	+		



R: Mycolic acid residue (Aoyama B)

図3 合成 TMM 類縁体の化学構造

2) 毒 性

Bloch, Noll らは、結核菌から精製したコードファクター (TDM) を植物油に溶解しマウスに腹腔内投与すると、マウスは体重が減少し死に至ることを明らかにしたが、その後 Yarkoni らは、TDM を鉱物油に溶解し、鉱物油の濃度を 9% とした水中油型エマルジョンを静脈内投与したマウスも死亡することを示した。我々は、ヒト型結核菌青山 B 株から得られたミコール酸 (炭素数約 80) を原料に合成した TDM について、マウスに対する致死毒性を Yarkoni らの方法により確認し、種々の TDM 関連化合物の毒性を同様に調べた。Nocardia や Corynebacterium から得られるノカルドミコール酸やコリノミコール酸と同等の合成脂肪酸をエステル結合によりトレハロースの 6, 6' 位に導入した化合物 TD (BH 48), TD (BH 32) では、TDM に比較して毒性は極めて弱かった。ミコール酸 1 分子がトレハロースにエステル結合した Trehalose-6-monomycolate (TMM) も TDM に比較して毒性が弱かったが、TMM の糖部分をトレハロースではなく、グルコース、N-アセチルグルコサミン、アラビノース、ガラクトースとした monomycolate では、TMM と比較して更に毒性が弱かった。トレハロースの 6, 6' 位の水酸基をアミノ基で置換し、ミコール酸 2 分子を酸アミド結合により導入した化合物 (TDNM) も TDM に比較して毒性が弱かった。

3) マクロファージ活性化能

TDM を生理的食塩水に浮遊させ C₅₇ BL/6 マウスに腹腔内投与 (50 μg/mouse) し、7, 14, 21 日後に得

られる腹腔マクロファージが、同系マウスの腫瘍細胞である FBL-3 及び 3 LL に対して強い細胞傷害活性を示すことにより、TDM のマクロファージ活性化能を認めた。種々の TDM 関連化合物について同様にマクロファージ活性化能を検討した結果、トレハロースの 6, 6' 位に合成脂肪酸 2 分子を導入した種々の化合物、ミコール酸 1 分子をトレハロース、グルコース、N-アセチルグルコサミンにそれぞれ導入した化合物、トレハロースの 6, 6' 位の水酸基をアミノ基で置換し、ミコール酸 2 分子を酸アミド結合により導入した化合物 (TDNM) でマクロファージ活性化能が認められた。このうち、TDNM のマクロファージ活性化能は、TDM に比較して、より強いものであった。ミコール酸 1 分子をアラビノース、ガラクトースに導入した化合物ではマクロファージ活性化能が認められなかったことより、糖部分の重要性が示唆された。マウスに投与する際、TDM 関連化合物を生理的食塩水に浮遊させて投与する方法以外に、鉱物油に溶解し水中油型エマルジョンとして投与する方法も用いたが、どちらの方法によってもほぼ同様な結果が得られた。2 種類の投与形態を用いたことによる結果の不一致が一部認められたが、これは化合物の物性に起因した製剤学的な問題によると考えられた。

4) おわりに

我々の合成した TDM 関連化合物は、すべて TDM に比較して毒性が弱かった。マクロファージ活性化能は多くの化合物で TDM と同程度認められた。中でも注目されたのは、トレハロースの 6, 6' 位の水酸基をアミノ基で置換し、酸アミド結合によりミコール酸を導入した化合物 (TDNM) が、TDM に比較して毒性が弱く、

明らかに強いマクロファージ活性化能を示したことである。TDMは、内毒素やBCG細胞壁骨格などとの併用により、これら菌体成分の抗腫瘍活性を相乗的に増強するが、同様な抗腫瘍活性増強作用は、TDNMを抗腫瘍活性を有する化合物6-O-stearoyl-N-acethylmura-

myl-L-alanyl-D-isoglutamineと併用した際にも認められた。今後のアジュバント開発の方向を示す化合物としてTDNMを位置づけ、その生物活性について詳細な検討を加えるとともに、更にさまざまな類縁体を合成する予定である。

2. 結核菌ツベルクリン蛋白質

大阪市立大学医学部付属刀根山結核研究所 永 井 定

ミコバクテリア菌種それぞれに特異性のある抗原性蛋白質が精製され、これを用いて菌種を鑑別することが可能となれば、診断し治療する上に貢献する所が大きいと思われる。特に、人型結核菌とBCGとの区別、非結核性抗酸菌種間の鑑別が、皮内反応その他の簡便な方法を用いて可能ならば、BCGの予防効果についてもっと明確な判断が得られるだろうし、あるいは、感染菌種に対して迅速な対応が行えることになるだろう。従って、現在もお、これら特異抗原の探索は、抗酸菌研究分野では重要な課題の一つとなっている。

結核菌発見者であるKoch自身が、ツベルクリン(Old tuberculin, OT)を提唱し、これを結核の治療に用いようとしたが、かえって激しいアレルギー反応や、病状の悪化をみることになって、その目標は断念せざるを得なくなった。しかし、間もなく、結核感染の有無を知る上に有効な皮内反応検査が確立されることになった。

このツベルクリン皮内反応の抗原として古く用いられたOTは、結核菌培養液を加熱濃縮し、菌体を除去したものにすぎなかったため、これをもっと精製されたものとしたいという試みは多かった。精製ツベルクリン(Purified protein derivative, PPD)として、わが国でも1968年以降、OTに代って用いられることになったものは、Seibert¹⁾により開発された製法によるものである。彼女の精製法が画期的であった点は、肉汁を加えない全合成培地を使用したこと、限外濾過を行って、グリセリン、塩類などの低分子物質を除去したこと、更に、三塩化酢酸や硫酸による沈殿法を用い蛋白質部分を集めたこと、更に凍結乾燥を行って製品の変性を極力おさえる保存法をとったことなどであろう。当時としては画期的であったこれらの精製法も、临床上では一応の安定した製品としての役割は果せるにしても、今日要求されるような感染菌種の鑑別診断、あるいは免疫学の高度な研究に試薬として使用するには、あまりにも粗製であると言わざるをえない。

もとより、PPDをもっと精製しようとする試み、またミコバクテリア菌種それぞれに特異な抗原を探索する努力は数多くなされ、長い歴史を持っている²⁾。しかし、

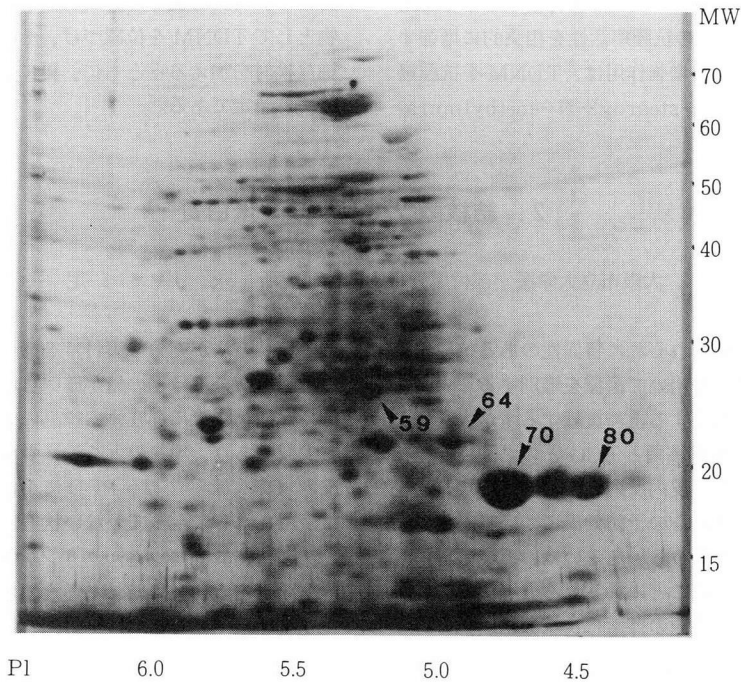
その精製方法が充分な裏付けを持って確実であり、実際にも試用できるほどの量が確保された蛋白質、更に、菌種特異性が明瞭に存在する標品についての報告は、極めて少数であり、現在のところ、少なくともツベルクリン皮内反応においては、PPDにかわる活性蛋白質は、まだ使用されるに至っていない状態である。

菌種に特異的なツベルクリン活性蛋白質は果して存在するのだろうか。また、あるとすれば、精製分取が困難である点は何か、について、演者が検討してきたBCGの培養濾液中の蛋白質を中心にしながら考察したい。

等電点と分子量をパラメーターとしたO'Farrell³⁾の二次元電気泳動法により、BCG東京株の培養濾液中の蛋白質をスポットとして展開すると図の如くなる。分泌された蛋白質は約300の染色点として現れる。このうちのいくつかのグループは、一つの蛋白質が合成された後、僅かな改変を受けたことにより、別のスポットとして現れているものの、後記のMPB70とMPB80との関係のように、構造そのものは酷似している可能性がある。このように相互に近似なものがあるとしても、なお100に及ぶ異種蛋白質が分泌されているものと見られる。加熱滅菌後の培養濾液についてこの二次元の展開を行うと、殆どのスポットが消失し、漠然とした帯状の染色が見られることになり、PPDのような加熱処理後のものから、その成分蛋白質を分離しようとするのは適切ではないことがわかる。

この二次元電気泳動法による解析は、菌種特異性について多くの示唆を与える。菌種あるいは菌株によって大きく分泌の度合が異なる蛋白質スポットがみられたり、また他方、多くの菌種にわたって定常的な存在を示すものもある。しかし、蛋白質によって染色される度合が相違するので、この展開図だけで各スポット蛋白質の多寡や異同を論じることには慎重でなければならない。

演者は、BCGの非加熱培養濾液中の蛋白質を精製するに当り、まず指標として、一次元のゲル電気泳動⁴⁾における染色蛋白バンドの易動度を選んだ。皮内反応における活性を指標とすることは、どの成分蛋白質においても多少ともこの反応活性を示すことが予想されるし、



蛋白質 150 μ g。第一次（左から右へ）：等電点電気泳動，第二次（上から下へ）：SDS 電動泳動。コマジープルー染色後さらに銀染色。

図 BCG 東京株の培養濾液中蛋白質の二次元電気泳動図（O'Farrell 法による）

表 精製単離された 4 MPB の性質一覧表

MPB	分子量	等電点	収量* (%)	N-末端アミノ酸配列	免疫反応	皮内反応力価**	分泌特異性
70	18,000	4.5	8.9	GDLVG PGVAE YAAAN PTGEA SVQGM EQDPV-	} 互いに 交差する	1 / 20	BCG 9 株中 4 株及 び牛型菌
80	18,000	4.8	0.8	同上		1 / 4	同上
64	23,000	5.0	0.1	APKTK ^H / _R EELKGG/ _T DTG QAYQI QMSPD AYNIN-	交差しない	1 / 1	同 上 及 び 人 型 菌
59	28,000	5.3	0.1	FSRPG LPVEY LQVPS PSMGG CIKVQ FQSGG NN-	交差しない	1 / 3	ミコバクテリア共通

* 初の硫酸沈殿蛋白質量に対する最終精製品量

** 対 PPD，モルモット

更に動物実験における不確実性や、検体数の極度の制約等、精製の指標とするには不都合である。また、抗血清を使用する二重拡散法、更に電気泳動を併用した一次元あるいは二次元の沈降反応を見る方法も、抗血清を必要とすること、手軽さ迅速さ等に劣ることなどの理由により、演者は鋭敏なゲル電気泳動法を分画の検索に用い、その蛋白質を充分精製した後に、免疫学的な諸性質を検討する方式をとった。

この一次元ゲル電気泳動により、各精製段階を検討す

ると、成分蛋白質によっては、時には異常な tailing を示したり、また他の微細な成分を随伴し勝ちであったりすることがわかった。これらを除去し、あるいは防止するには、低濃度の尿素などを加え、蛋白質の疎水的相互作用を変化させると有効である場合が多いことを知った。精製されたものにおいても、会重合の傾向がみられたりするので、蛋白質自体にこの傾向があることになる。

このように、一次元ゲル電気泳動により精製度をしらべながら得られた高度精製品について、二次元ゲル電気

泳動におけるスポットの対比, 精製蛋白質に対してつくられた抗血清を用い交差免疫電気泳動 (CIE) における既知の沈降線との対比, ラジオイムノアッセイによる抗原としての異同検索, N-末端側からアミノ酸結合序列 (約30残基) を調べることで化学構造からみた異同調査, 更にツベルクリン反応惹起抗原としての, モルモットにおける活性比較などを行った。現在までに単離したBCGの4つの蛋白質について, その大略の性質を表に示す。

これらのうち, MPB 70 は極めて特異な性質を持つ⁹⁾。まず, ミコバクテリア菌種間のみならず, BCG 菌株間においても, 分泌量に関して際立った差がある。即ち, 日本株 (Tokyo 172) においては培地内に分泌される蛋白質量の約10%にも及び, 更にこれと構造的に極めて近似し, 免疫学的にも交差するMPB 80 及びその一連の蛋白質を加えると15%にも達する。MPB 70 だけに限っても, 培地 1 l から精製品約10mg が得られる勘定である。かかる多量に分泌される一連の蛋白質であるにもかかわらず, BCG 日本株と同様に顕著な分泌をするものは, Moreau, Russia, Sweden 株である一方, Pasteur, Copenhagen, Tice, Glaxo, Beijing 株では殆ど分泌されないという結果を得た^{6)~8)}。この他 *M. bovis* (Ravenel, 牛10) には同様に多く存在するが, 検討したその他のミコバクテリア菌種では殆ど検出されないという著しい菌種特異性を有する^{7)~8)}。ミコバクテリア以外には, *Nocardia asteroides* で僅かな産生があることが免疫学的に見出された。MPB 70 は分泌型の蛋白質であり, 菌体内には微量にしか存在しない。

MPB 64 は, MPB 70 及び80と非常によく似たBCG菌株及びミコバクテリア菌種特異性を持つ。相違する所は, MPB 64 が人型結核菌 (H 37 Rv, 青山 B) にも分布する点である。しかし, アミノ酸配列や交差免疫反応においては, MPB 64 とMPB 70-80 と相似する所は全くない⁸⁾。

一方, MPB 59 は, ミコバクテリアに特異的と言える蛋白質であって, テストしたすべてのミコバクテリア菌種にわたって広く存在する⁹⁾。MPB 70 とは異なり, *Nocardia* では見出されなかった。

モルモットを使用した皮内反応では, MPB 70-80 及び64を抗原とした場合, 上記の分析結果に一致する明確な特異性がみられた。しかしBCGワクチン投与後の学童についてのMPB 70を抗原とした皮内反応テストでは, ワクチン効果を判定するのに役立つような結果は得られず, PPDほどの現実性を示さなかった¹⁰⁾。精製された蛋白質を抗原として検診に用いる場合には, PPDとは異なる投与方法, 判定法が必要かもしれない。

PPDにかわるツベルクリン皮内反応抗原として上記蛋白質を検診等に使用するには, なお条件を検討する必

要があるが, 少なくとも基礎的な研究では, 充分特異性を示す抗原蛋白質が見出され, また精製法が確立されたことになる。この手法は, 他のミコバクテリア菌種における特異的抗原蛋白質の探索にも利用できよう。

近年, モノクローン抗体や遺伝子操作による抗原蛋白質の検討が, ミコバクテリアについても相次いで報告されはじめた。現在の所はまだ充分精製された特異抗原の分取にまで至っていないが, 分離能のよい高速液体クロマトグラフィー (HPLC) の利用も考えられる段階になっており, これらの最新技術をも加えて, 今後急速な展開がなされるものと思われる。

文 献

- 1) Seibert, F. B. and Glenn, J. T. : Tuberculin purified protein derivative. Preparation and analyses of a large quantity for standard, Am Rev Tuberc, 44 : 9, 1941.
- 2) Daniel, T. M. and Janicki, B. W. : Mycobacterial antigens : a review of their isolation, chemistry, and immunological properties, Microbiol Rev, 42 : 84, 1978.
- 3) O'Farrell, P. H. : High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins, J Biol Chem, 250 : 4007, 1975.
- 4) Davis, B. J. : Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins, Ann N Y Acad Sci, 121 : 404, 1964.
- 5) Nagai, S., Matsumoto, J. and Nagasuga, T. : Specific skin-reactive protein from culture filtrate of *Mycobacterium bovis* BCG, Infect Immun, 31 : 1152, 1981.
- 6) Miura, K. et al. : Comparative studies with various substrains of *Mycobacterium bovis* BCG on the production of an antigenic protein, MPB 70, Infect Immun, 39 : 540, 1983.
- 7) Harboe, M. and Nagai, S. : MPB 70, a unique antigen of *Mycobacterium bovis* BCG, Infect Immun, 52 : 293, 1986.
- 8) Harboe, M. et al. : Properties of proteins MPB 64, MPB 70, and MPB 80 of *Mycobacterium bovis* BCG, Infect Immun, 52 : 293, 1986.
- 9) Wiker, H. G. et al. : MPB 59, a widely crossreacting protein of *Mycobacterium bovis* BCG, Int Archs Allergy appl Immun., in press.
- 10) 森 亨・豊原希一 : BCG 由来ツベルクリン様蛋白質精製物 (MPB 70) の臨床応用可能性に関する検討, 結核, 55 : 141, 1980.

3. 結核菌 DNA 画分の免疫活性

国立予防衛生研究所細胞免疫部 山 本 三 郎
島 田 静 雄
徳 永 徹

はじめに

BCG は結核に対する生菌ワクチンであり、結核菌に対する特異的免疫誘導活性は詳細に研究されてきた。一方、BCG は癌の免疫療法剤としても広範に検討され、その作用機序についても多くの報告がある¹⁾。BCG や他のミコバクテリア菌から抗腫瘍活性を持つ菌体成分の検索も広く行われており、ロウD画分、細胞壁骨格成分、コードファクター等が知られている。

著者らは BCG から抗腫瘍活性を持つ水溶性画分を得るため、BCG をダイノミルで破碎後の上清に硫酸ストレプトマイシンを加え、沈査を更に精製することにより、核酸を主成分とする画分 (MY-1) を得た (図1)²⁾。MY-1 は水溶性で、70% DNA, 28% RNA から成り、その他の成分の混入は極めて僅かであった。また MY-1 を Sepharose CL-6B カラムにかけ、その溶出パターンを調べることににより、分子量が $2 - 4 \times 10^5$ にあることが、またヒドロキシアパタイトカラムの溶出パターンから主成分の DNA は単鎖であることが知られた²⁾。

MY-1 の抗腫瘍活性

MY-1 は多数の同系腫瘍に対し、局部連続投与により著明な腫瘍縮小効果を示した。即ち、IMC, MethA, B 16, S 1509a, MM 46 腫瘍をそれぞれのマウスに接種後、100 μ g の MY-1 を隔日に6回腫瘍内注射したところ、殆どすべてのマウスで腫瘍の増殖が抑制された。また Line 10 肝癌を strain 2 モルモットに接種した場合も同様の効果を示した (図2)。PBS 投与の対照群 (A) では、原発部位 (実線)、リンパ節転移部位 (破線) とも腫瘍の増殖が見られ、動物は全死死亡したのに対し、Line 10 接種部位に500 μ g の MY-1 を隔日に投与した群 (B) では、5 例中3例で腫瘍の完全退縮が見られた。また RNase 処理した MY-1 は更に強い抗腫瘍性を示し、5 例中4例で腫瘍の完全退縮が見られた (C)。一方、MY-1 を DNase 処理した後に投与した群では、抗腫瘍効果は、全く認められなかった (D)。なお MY-1 を RNase 処理すると、その DNA 含有量は97.0% に、また MY-1 を DNase 処理すると、その RNA 含量は、97.0% であった。これらの結果は、MY-1 中の DNA が抗腫瘍効果の発現に重要な役割を担っていることを示唆している。

腫瘍細胞と MY-1 とを試験管内で混合培養して、MY-1 による直接的細胞傷害性を調べたが、その効果は認められないことから、MY-1 の抗腫瘍効果は、生体を介することが示唆された。

試験管内での MY-1 のナチュラル・キラー (NK) 活性増強及びマクロファージ活性化因子 (MAF) とインターフェロン (IFN) 産生誘導

BALB/C マウス脾細胞 (1×10^7 /ml) を MY-1 とともに一定時間培養した後、細胞の NK 活性を ⁵¹Cr-標識 RL δ 1 細胞に対する4時間-細胞傷害性試験で調べたところ、6-20時間の培養により NK 活性の増強が認められた。また脾細胞と MY-1 との培養上清中には、リポポリサッカライド (LPS) 存在下でマクロファージを活性化して、EL 4 白血病細胞を破壊する MAF と、抗ウイルス活性を持つ IFN の共存が認められた。これらの活性は、MY-1 を DNase 処理すると完全に失われたが、MY-1 を RNase で前処理しても、全く影響を受けなかった (表1)。これらの結果は、*in vivo* での MY-1 の効果と同様、*in vitro* の活性発現においても、MY-1 中に含まれる DNA によっていることを示している。

次に脾細胞と MY-1 との培養上清に含まれる因子の性質を調べるため、上清を抗インターフェロン α/β 抗体 (抗 IFN α/β) または抗インターフェロン γ 抗体 (抗 IFN γ) で処理した後、IFN 活性と MAF 活性を測定した。(表2) に示すように、培養上清を1,000U の抗 IFN α/β で処理すると、その IFN 活性は著しく低下した。また、同じ検体の MAF 活性は、殆ど変わらなかった。一方、培養上清を10U の抗 IFN γ で処理しても、IFN 活性は影響を受けなかったが、MAF 活性は、ほぼ完全に失われた。更に、培養上清を PH 2 の緩衝液に対し、24時間透析した後、中性に戻してその活性を調べたところ、MAF 活性の著しい低下が認められたが、IFN 活性は変らなかった。これらの結果は、脾細胞と MY-1 との培養上清中には、 2×10^2 U 以上の IFN α/β と微量の IFN γ とが混在し、MAF 活性は IFN γ に因っていることが示唆された。

MY-1 の標的細胞の検討

T 細胞が MY-1 の活性に関与しているかどうかを調

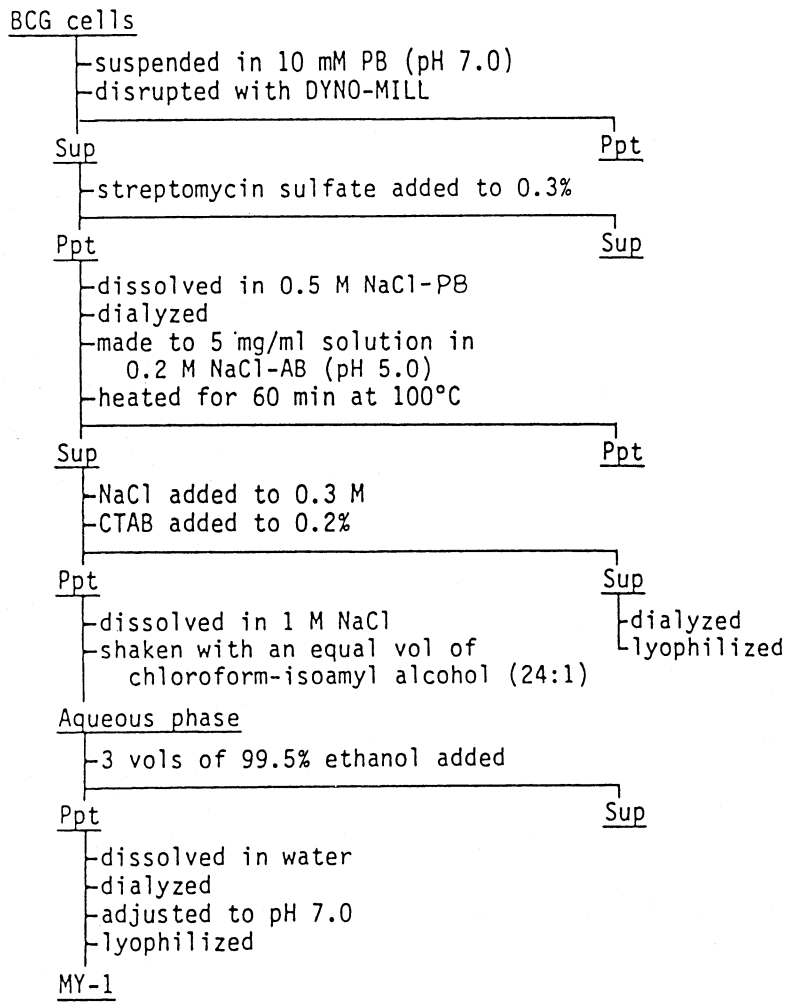


図1 BCG 菌体から MY-1 の抽出、精製法

表1 NK増強及び MAF/IFN 産生におけるヌクレアーゼの影響

検 体	NK 活性 (%±SD)	MAF活性 (%±SD)	IFN 活性 (IU/ml)
MY-1	37.1±3.4	24.9±2.4	256
RNase 処理MY-1	33.1±1.8	19.1±2.9	256
DNase 処理MY-1	4.6±0.8	2.2±1.6	< 4
培地のみ	4.6±0.8	1.2±2.9	< 4

表2 培養上清中の MAF/IFN 活性に及ぼす抗 IFN 抗体の効果

培 養 上 清	処 理	MAF活性 (%±SD)	IFN 活性 (IU/ml)
脾細胞のみ	な し	1.3±0.4	< 4
脾細胞+MY-1	な し	29.0±2.7	256
	抗IFNα/β ¹⁾	23.2±1.3	16
	抗IFNγ ²⁾	1.5±0.3	282
	PH 2	4.3±2.8	220

1) 1,000 U

2) 10 U

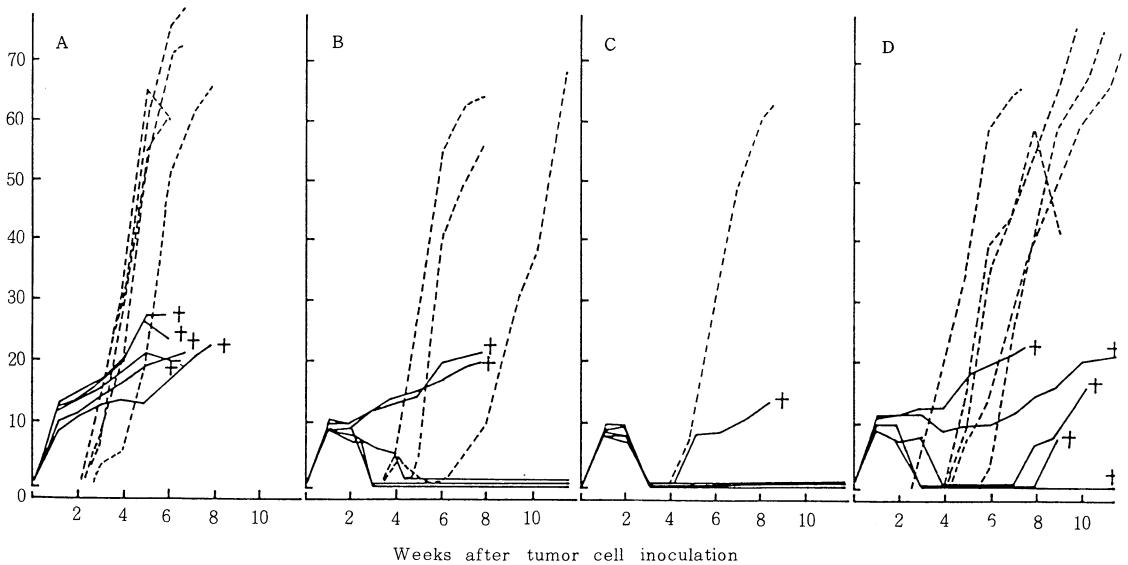


図2 モルモット Line-10 腫瘍に及ぼす MY-1, MY-1 ヌクレアーゼ処理物の効果

べるため、抗 Thy 1, 抗 Lyl 1 または抗 Lyl 2 抗体と補体の存在下で、脾細胞を前培養した後、MY-1 と 20 時間培養したところ、いずれの抗体と補体の処理も、MY-1 による活性増強に影響しなかった。また胸腺を欠き、成熟 T 細胞を持たないヌードマウスの脾細胞も、MY-1 によく反応した。

次にアシアロ GM₁ 陽性細胞の役割を調べるため、抗アシアロ GM₁ 抗体 (抗 AG₁) と補体で脾細胞を前処理した後、MY-1 と 20 時間培養した。NK 活性の増強と IFN 産生は、抗 AG₁ と補体の処理により著しく低下したが、MAF 活性は影響を受けなかった。これはアシアロ GM₁ 陽性細胞が IFN α/β の産生には関与しているが、MAF/IFN γ 産生には関与しないことを示唆している。

脾細胞をセファデックス G-10 カラムを通過する細胞 (非粘着性脾細胞) と、プラスチックシャーレに粘着する画分 (粘着性脾細胞) とに分け、それぞれ、または両者を混合した細胞と MY-1 とを培養して活性を調べた。非粘着性細胞では MY-1 と培養しても、いずれの活性も発現しなかったが、これに粘着性細胞を加えると活性の回復が認められた。

由来を異にする DNA の活性

サケ精子及びウシ胸腺由来 DNA は脾細胞と培養しても活性の増強は極めて低く、これは細菌由来 DNA との間に何らかの差異があることを示唆している。

合成 DNA の活性

これまで述べてきた MY-1 の活性が DNA そのものによることを、更に確かめるため、種々の合成 DNA

の活性を調べた。脾細胞とそれぞれの合成 DNA とをポリミキシン存在下で培養すると、一重鎖及び二重鎖のランダム・コポリマーが活性を示した。一方、C₃H/HeJ マウスの脾細胞を用いたところ、一重鎖のランダム・コポリマーである、ポリ (dG・dC) が活性を示した。

この合成 DNA はマウス腫瘍に対し、腫瘍生着抑制効果を示した。即ち IMC 腫瘍 (1×10^6) とポリ (dG・dC) 100 μ g とを混合し、CDF₁ マウスに皮下接種したところ、5 匹中 4 匹で腫瘍の生着阻止が認められ、残る 1 匹の腫瘍増殖も対照に比べ抑制された。

おわりに

MY-1 で明らかとなった DNA の抗腫瘍効果、または試験管内の細胞性反応が合成 DNA においても認められた。これらの活性はより高等な動物由来 DNA では見られないことより、原核細胞と真核細胞の DNA にある構造上の差異との関連につき検討を続けている。

文 献

- 1) 徳永 徹 : BCG の抗腫瘍作用の機序, 結核, 55 : 351, 1980.
- 2) Tokunaga, T. et al. : Antitumor activity of deoxyribonucleic acid fraction from *Mycobacterium bovis* BCG. I. Isolation, physicochemical characterization, and antitumor activity, J Natl Cancer Inst, 72 : 955, 1984.
- 3) Shimada, S. et al. : Antitumor activity of the DNA fraction from *Mycobacterium bovis* BCG. II. Effects on various syngeneic mouse tumors, J Natl Cancer Inst, 74 : 681, 1985.

4. MDP 誘導体の感染防御活性

北海道大学免疫科学研究所免疫動物実験施設 石原智明

はじめに

N-acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamine (MDP) は、1974年 Elloutz らによって、細菌細胞壁ペプチドグリカンが示す抗原特異免疫強化作用を担う最少構造単位として同定されたが、まもなく、微生物感染に対する宿主の抵抗力を非特異的に増強する物質としての研究も活発に行われるようになった。感染防御活性の高い MDP 誘導体として、Chedid らは N-acetylmuramyl-L-alanyl-D-glutaminy- α -n-buthylester を、Matsumoto らは 6-O-stearoyl-muramyl-N-acetyl-L-alanyl-D-iso-glutamine (L18-MDP) 及び N^α-MDP-N^ε-stearoyl-L-lysine (MDP-Lys-L18) を、Dietrich らは N-acetyl-L-alanyl-D-isoglutaminy- α -alanine (1', 2'-dipalmitoyl-sn-glycero-3'-hydroxyphosphorylox)-ethylamine (MTP-PE) を報告している。我々はマウスの *Corynebacterium kutscheri* 日和見感染モデル及びセンダイウイルス感染モデル系を用いて、いくつかの Stearoyl-MDP についてその感染防御活性を検討し、成績を得たので以下に報告する¹⁾²⁾。

1. *C. kutscheri* 日和見感染モデル系における stearoyl-MDP の効果

MDP の stearoyl 誘導体として、L18-MDP, MDP-Lys-L18, 2 N-stearoyl-MDP (2 N-L18-MDP) 及び 6 N-stearoyl-MDP (6N-L18-MDP) を使用した。マウスは 6~10週齢の BALB/c slc 系雄性, SPF の 8~11匹を 1 群として、MDP の stearoyl 誘導体 100 μ g を静脈内に投与した。その 1 日後に 2×10^4 colony forming units (CFU) の *C. kutscheri* を静脈内ルートで感染させる一方、酢酸ヒドロコチゾン 2.5mg を腹腔内に投与して免疫抑制した。これによって、*C. kutscheri* 単独では感染死することはないが、コチゾン処置群ではその 80~100% の個体が感染後 4~12 日目に死亡するような実験系となった。MDP の stearoyl 誘導体を liposome に取り込ませた形で投与した場合、L18-MDP 及び MDP-Lys-L18 は高い感染防御活性を示し、それぞれ 91 及び 90% が生存した。しかし 2 N-L18-MDP 及び 6N-L18-MDP は感染防御活性を示さず、いずれも生存率 10% で、感染対照群の生存率 40% よりも低い値を示した (図 1)。これら化合物をリン酸

緩衝生理食塩水 (PBS) に溶解した形で投与した場合、親油性基をペプチド部分にもつ MDP-Lys-L18 では生存率 89% と感染防御活性は変わらなかったが、親水性の L18-MDP では生存率が 44% に低下し、弱い感染防御活性に留まった。2 N-L18-MDP は生存率 10% であった。なお感染対照群の生存率は 13% であった。これら化合物の投与時期に関する検討をしたところ、liposome に取り込ませた形の L18-MDP を感染前 1~5 日目に投与したときは強い感染防御活性を示すが、感染後に投与した場合には効果が認められなかった。静脈内に接種した場合、*C. kutscheri* は接種後 1 時間で、肝臓に 70~80% が、10~20% が脾臓に、残りが腎臓などに認められた。この傾向は、コチゾン処置の有無にかかわらずみられたが、コチゾン処置群ではその後日を追って菌量が増加していたのに対し、免疫抑制していないマウスでは菌数の減少がみられた。liposome に取り込ませた形で L18-MDP を投与した場合、感染後 3 日目の肝臓及び腎臓内菌数は liposome のみを投与した対照群マウスよりも少なく、両群の差は感染後 5 日目では更に明らかであった (表)。MDP の stearoyl 誘導体が好中球及びマクロファージを局所に誘導すること、あるいはマクロファージを活性化することが報告されており、これら食細胞の活性化及び動員によって、*C. kutscheri* の日和見感染が防御されているものと考えられた。

2. センダイウイルス感染モデル系における stearoyl-MDP の効果

センダイウイルスは Parainfluenza virus I 型に属し、マウスに経気道的に感染し、気管及び気管支上皮細胞で増殖し肺炎を起こすが、普通その他の臓器には移行しない。このようなウイルス感染モデルを用いて stearoyl-MDP の効果を検討した。マウスは 4~5 週齢の、BALB/c slc 系、雄性、SPF を用い、stearoyl-MDP の PBS 溶液を軽いケタミン麻酔下で、経鼻的に投与した。センダイウイルスは、LLCK-2 細胞を用いて測定し、その培養上清の血球凝集価が $10^{1.7}$ TCED 50 (50% tissue culture infective dose) となる量を、ケタミン麻酔下で経鼻的に感染させた。これによってマウスの 60~80% が、感染後 7~13 日目に死亡する実験系となった。いくつかの MDP の stearoyl 誘導体を 10 μ g 経鼻的に投与した場合、MDP-Lys-L18 は強い感染防御活性を示し、すべてのマウスが生き残った。L18-MDP 投与

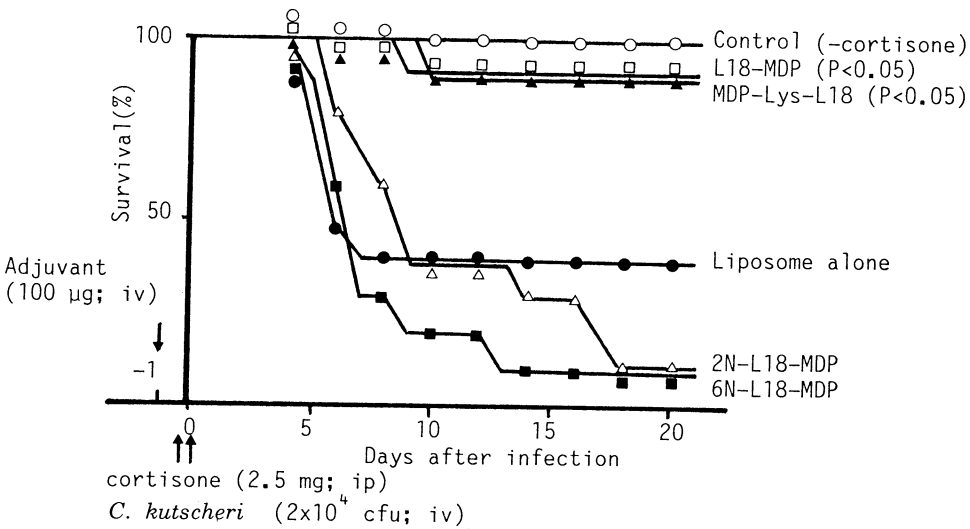


Fig.1. Effect of MDP analogues on host resistance in mice to infection after administration of hydrocortisone acetate.

Table. Suppression by L18-MDP of bacterial growth in the kidney and liver of mice infected with *C. Kutscheri* after administration of cortisone

	Days after infection ^b	Viable units of <i>C. kutscheri</i> /gram of organ	
		Empty liposome	L18-MDP in liposome
Liver	3	2,291	275
	5	5,248	19 (P<0.01)
Kidney	3	4,570,881	125,893
	5	10,000,000	15,136 (P<0.05)

^aGroups of 5 to 6 mice were treated intravenously with 100 µg of L18-MDP in liposome(on day -1) and infected intravenously with 2x10⁴ *C. Kutscheri* cells on day 0. A 2.5 mg of hydrocortisone acetate was given intra-peritoneally on day 0.

^bThree or 5 days after infection, mice were sacrificed and colony forming units in liver and kidney were examined by culturing these organ homogenates on nutrient agar.

群は88%が生残し、強い感染防御活性が認められた。しかし MDP は弱い活性に留まり (生存率71%), 2N-L18-MDP は活性を示さなかった (生存率50%)。またウイルス感染対照群の生存率は38%であった (図2)。MDP-Lys-L18 の投与量を検討したところ、10 μg 及び 1 μg の経鼻投与では86及び83%が生残し、感染防御活性が認められたが、0.1 μg では29%の生存率で、ウイルス接種対照群の生存率と同じであった。MDP-

Lys-L18 を静脈内及び腹腔内に投与した場合、投与量を100 μg としたにもかかわらず、マウスの生存率は、それぞれ60%及び67%と弱い感染防御活性に留まった (図3)。なおこの実験におけるウイルス対照群の生存率は20%であった。更に、MDP-Lys-L18 の投与時期と感染防御効果の関係をみたところ、感染前1ないし3日目の投与では全例が生残したものの、感染後1日目に投与した場合の生存率は20%で、ウイルス対照群のそれと

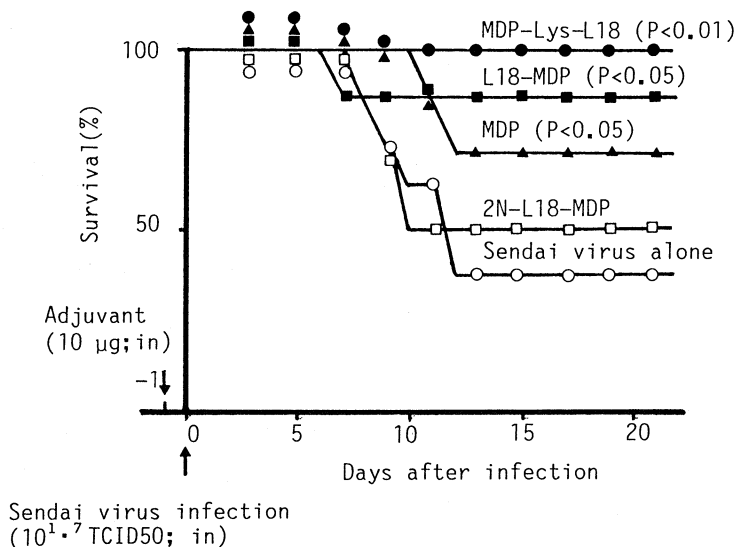


Fig. 2. Effect of MDP, MDP-Lys-L18, L18-MDP and 2N-L18-MDP on resistance to Sendai virus infection in mice.

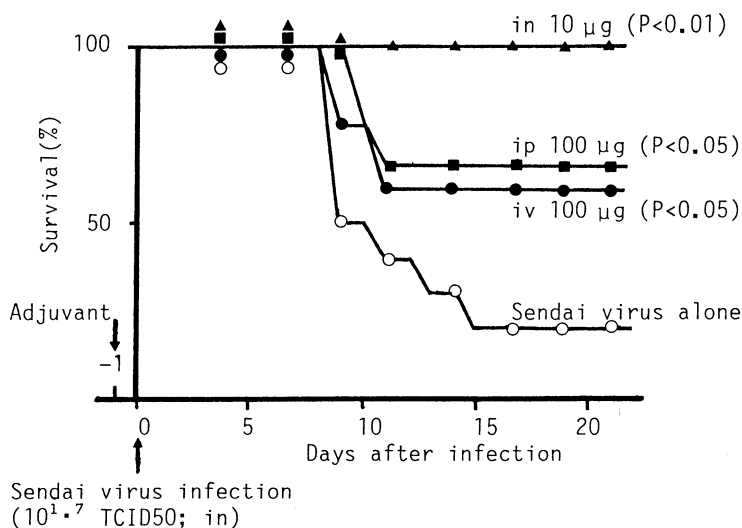


Fig. 3. Effect of route for MDP-Lys-L18 treatment of resistance to Sendai virus infection.

同じであった。

また感染前 7 日目の投与でも感染防御効果は見られなかった。センダイウイルス感染マウス肺をホルマリン固定し、抗センダイウイルスウマ血清、ビオチン化抗ウマ IgG 及びアビジン DH で染色した場合、ウイルス抗原は気管支～呼吸細気管支上皮細胞に見られた。抗原は感染 1 日目には一部の細胞で陽性となり、3～5 日で抗原陽性細胞数はピークとなった。8 日目では僅かの細胞が抗原陽性を呈したが、12 日目には抗原陽性細胞が見られなかった。このような傾向は MDP-Lys-L18 投与群、及びセンダイウイルス感染対照群とも同じで、両群の間に大きな違いは認められなかった。また気管及び肺ホモジネートを用い、ウイルス量を LLCMK-2 細胞で測定した場合にも、MDP-Lys-L18 投与群と、ウイルス感

染対照群との間にはごくわずかの違いしかみられなかった。これらの結果は MDP-Lys-L18 の作用機序を明らかにする上で興味深いものと考えられた。

文 献

- 1) Ishihara, C. et al. : Effect of stearyl-N-acetylmuramyl L-alanyl-D-isoglutamine on host resistance to *Corynebacterium kutscheri* infection in cortisone-treated mice, Vaccine, 2 : 261, 1984.
- 2) Ishihara, C. et al. : Effects of muramyl dipeptide and its stearyl derivatives on resistance to Sendai virus infection in mice, Vaccine, 3 : 370, 1985.