

切除肺病巣内結核菌の形態，染色性に関する研究

第 3 編

実験的肺結核病巣内菌の形態，染色性に及ぼす抗結核剤の影響

指導 岡山大学医学部第一内科教室 小坂淳夫教授
国立岩国病院 副院長 岩原定可博士

国立岩国病院内科

初 鹿 亨 太 郎

〔昭和34年4月30日受稿〕

【 緒 言 】

著者は前回までの実験に於て，切除肺病巣内結核菌の形態，染色性，並に病巣組織中結核菌の分布に就て検索したが，切除肺病巣中の菌検索に於ては，術前に各種抗結核剤の併用が行われていたもので，個々の薬剤の菌形態に及ぼす影響の検討は不可能であつた。従来試験管内実験に依る結核菌に抗結核剤を作用させての菌形態に及ぼす影響の検討は，Domagk¹⁾，占部²⁾等内外諸家により行われ，幾多報告されているが，動物を用い肺結核病巣内菌についての実験は，海猿を用い TB₁ について行つた Domagk¹⁾ の記載以外報告例は少い。

著者は化学療法非施行例を対照として，抗結核剤により病巣内菌の受ける形態学的変化，及び個々の薬剤の菌形態に及ぼす影響を知る目的で，海猿を用い，各種病巣を形成し之に化学療法を試みた。

動物を用い，肺に結核性空洞を形成しようとする試みは，最近抗原抗体反応に基き，家兎又は海猿を用いて行つた山村³⁾，和田⁴⁾等の実験が有り，この方法では二次抗原の肺内注射後，15～30日で空洞が形成されるが，無感作の場合は空洞形成は至難とされている。

一方気道内感染による方法も古く清野⁵⁾によつて試みられて居り，この方法では肺内注射より病巣の出来方が遅く，又感作群と無感作群で病巣の出来方を見ると，無感作群では，病巣は孤立した被膜の明瞭な，滲出性の病変をとり，軟化空洞化の傾向がつよく感作群では，気管支性に撒布する傾向がつよく，増殖性の傾向をとり周囲との境界不明瞭な病巣が出来ると述べている。又神山・北沢⁶⁾は家兎に人型菌の気道感染を起して実験的に肺結核症を作り PAS⁷⁾，TB₁⁸⁾，の治療効果について報告し，又黒岩⁹⁾も同様な方法で

家兎に肺病変を作つている。

著者は以上の諸家の報告を検討し，以下の実験を行つた。

Ⅱ．実 験 方 法

その 1

山村³⁾の方法に従い，体重 450～600 g の健康海猿（雌雄を問わない）を用い，Römer 反応陰性であることを確めた後，第一次抗原に下記の組成を有する混合液 0.25cc（菌量 5 mg）を，5 日間隔で大腿皮下に反覆注射し，毎回100倍の「ツ」液で Römer 反応を確めた。

第一次抗原

人型菌 H₃₇Rv，15分間加熱死菌 200mg（湿量）
流動パラフィン 4.0cc
家兎肺 1 g 生理的食塩水ホモゲナート 4.0cc

（人型菌 H₃₇Rv 株は小川培地に 4 週間培養のものを使用）

Römer 反応は何れも 4～5 回の注射で陽転したが，初回の注射より 30 日後に，第二次抗原として次の組成の混合液，即ち 1.0cc に生菌 4 mg 含有のものを 0.05cc（菌量 0.2mg）宛，胸壁を経て直接左右肺内へ注射した。

第二次抗原

H₃₇Rv 生菌 12mg（湿量）
流動パラフィン 2.0cc
脱水ラノリン 1.0cc

肺内注射後 14 日目，30 日目に胸部 X 線撮影を行い，45 日後の屠殺例及び，自然死亡例について肺内病変を観察した所，25 匹中 X 線的に病巣陰影を認めたものは 2 例に過ぎず 6 例に粟粒大の撒布巣を認めたのみで，空洞形成を見た例はなかつた。

この場合大多数に肋膜に病変を伴って居り、又肺の表面に病巣が散布していた。従つて肺内へ正確に菌が入らなかつたことも考えられるので、正確に菌が肺内へ入る方法として又、気道内感染の方が自然の感染方法であると考え次の様に気管内注入を行つた。

その2

体重450～550 g (雌雄を問わない) 健康海溟を無感作群と感作群に分け、感作群としては前法と同様な H₃₇ Rv 死菌混合液、菌量 4 mg を5日間隔で大腿皮下に反覆注射し、30日後に Römer 反応陽性のものについて、無感作群ではそのまま、前頸部切開を行い、H₃₇ Rv 2 mg 生菌を生理的食塩水 1.0cc に 2 mg 含有のものを 0.1cc 及び 0.2cc (菌量 2 mg 及び 4 mg) を直接気管内に左下葉に菌液が局限する様に体位を保ち乍ら徐々に注入した。

注入後14日、40日目の2回に亘り胸部X線撮影を行い、40日後に病巣形成を確認して之を SM, PAS INH 各単独治療群に分け、初めの4週は SM 20mg, PAS 200mg, INH 10mg 毎日皮下注射、次の4週は隔日注射とし、計8週間治療を行つた。

以上の中、実験対象となし得たものは総数36匹で、その中化学療法前の自然死亡例、化学療法後1週間以内の死亡例、並に気管内注入400日後のX線所見陰性の屠殺例を化学療法非施行例とした。病巣を認めたものは15匹中、Z-N 法で抗酸性菌陽性の18病巣であり、又化学療法例は総数16匹中、得られた病巣は10匹中の抗酸性菌陽性の SM 治療群4, PAS 群4, INH 群5病巣である。

之等の病巣について肉眼的観察と共に、組織学的検査として、Haematoxylin・Eosin 染色, Orcein 弾力線維染色, Van-Gieson 染色を行い、又病巣内容の塗抹標本を作成(内容の固いものは鑷子で挫圧して塗抹標本を作成)し、結核菌検索には、Ziehl-Neelsen 法(以下 Z-N 法と略)、黒田法, Anilin-Fuchsin-Gram 法(以下 A.-F.-G. 法と略)、Ziehl-Heidenhein 法(以下 Z-H 法と略)、を併用し菌の存在する50視野中の単個桿状菌数、菌集落数を算え、菌長の判定は前回と同様な方法によつた。又培養には、8% NaOH 処置後、3% KH₂PO₄ 培地を使用し、第12週まで観察した。又病巣の分類方法は第2編と同様な方法によつた。

Ⅱ. 実験成績

1. 化学療法非施行例の検討

化学療法非施行例は第1表の如く、空洞5, 乾酪病

巣13(中、組織学的に充実空洞2)計18病巣である。空洞の大きさは0.4cm から0.8cm で、乾酪巣の中には組織学的に被包化の認められるもの及び、被包化されず、乾空性肺炎の像を示すものを含み、粟粒大から0.4cmのものである。

先ず培養成績について見ると、18病巣中培養陰性(以下培(一)と略)は5例(充実空洞1, 乾酪巣4)で、塗抹陽性(以下塗(+)と略)・培(一)は22%である。

Z-N 法にり病巣別に菌数を比較すると、第2表の如く、空洞では乾酪巣よりも菌数の多い例が多く、空洞では中桿菌を主とし、No.9, に長桿菌増加の傾向が認められたが、生体の化学療法例に見られた異常伸長型は認められなかつた。

一方乾酪巣に於ても同様に中桿菌を主とし、この傾向は空洞よりも著しく、No.11, No.16, に見る様に充実空洞では何れも短桿菌増加の傾向が認められた。

次に培(+)群と培(一)群で菌形態を比較すると、著明な差異は認められないが、菌数と培養成績との関係を見ると、培(一)群では培(+)群に比し、菌数の少い例が多く認められた。

次に変形菌傾向について見ると、総体的には10%以下のものが多く、顆粒型は認められず、之を病巣別に見ると第3表に示す様に、空洞で最も低率で、充実空洞で最も高率を示している。

又変形菌傾向と培養成績との間には間聯性は認められなかつた。

次に黒田法に於ける染色性について見ると、第4表の様に、乾酪巣の1例を除き何れも赤褐色、乃至紫黒色に良染し、赤紫色淡染型は認められず又染色性と培養成績との間には間聯性を認めなかつた。

次に A.-F.-G. 法に於ける抗酸性率について見ると、第5表の様に、空洞では乾酪巣よりも抗酸性率の高い例が多く、又培養成績との関係を見ると培(一)群では培(+)群に比し抗酸率の低い例が多い。

Z-H 法に於ける易染性率については第6表の様に、空洞では乾酪巣よりも易染性率の低い例が多く、培養成績との関係を見ると、培(一)群では培(+)群に比し易染性率は高率を示している。

2. 化学療法例の検討

化学療法例は空洞2, 被包乾酪巣11, 計13病巣で、被包乾酪巣の中には、粟粒大の結節性病巣を含み、非施行例に比べると内容の比較的硬い病巣が多い。

先ず培養成績について見ると、13病巣中培(一)は9例(何れも被包乾酪巣)で塗(+)・培(一)は67%である。

Table 1. non-chemotherapy cases

number of specimen	number of guinea-pig	weight of body	quantity of bacilli of intra-tracheal inj.	days before death	character of lesions	histologic view	culture-result
1	1 ♀	520 g	2 mg	after 32 days	0.2×0.2cm caseous focus with soft contents scatters in the left lower lobe	encap. caseous focus	+
2	2 ♂	480 g	2 mg	// 34 //	caseous focus with unclear border in the left lower lobe	caseous focus (cheesy pneumonia)	+
3	3 ♂	540 g	2 mg	// 34 //	0.5×0.5cm cavity with little caseous substances in the right middle lobe	cavity	+
4	4 ♂	520 g	2 mg	// 36 //	0.2×0.2cm disseminated focus with soft contents in the all lung field	encap. caseous focus	+
5	5 ♂	560 g	2 mg	// 36 //	0.2×0.2cm disseminated focus, contents is soft in the all lung field	encap. caseous focus	+
6	6 ♀	570 g	4 mg	// 24 //	coexistence of caseous focus with unclear border and granular tissue in the right lower lobe	caseous focus (cheesy pneumonia)	—
7	7 ♂	520 g	4 mg	// 28 //	0.4×0.4cm round-caseous focus with soft contents in the left lower lobe	encap. caseous focus	+
8	7 ♂	520 g	4 mg	// 28 //	0.4×0.5cm cavity with little contents in the right lower lobe	cavity	+
9	8 ♂	480 g	4 mg	// 30 //	0.7×0.7cm cavity in the left lower lobe, under the pleura	cavity	+
10	9 ♀	500 g	4 mg	// 42 //	0.7×0.7cm irregular cavity in the left lower lobe	cavity	+
11	10 ♂	490 g	4 mg	// 45 //	0.4×0.4cm round-lesion in the left lower lobe	insp. cavity	+
12	11 ♂	460 g	4 mg	// 46 //	0.7×0.7cm cavity in the left lower lobe	cavity	+
13	11 ♂	460 g	4 mg	// 46 //	miliary caseous focus scatters in the right middle, lower lobes	encap. caseous focus	+
14	12 ♂	460 g	4 mg	// 47 // slaughter	miliary caseous focus with soft contents scatters in the right lower lobe	encap. caseous focus	+
15	13 ♂	480 g	4 mg	//	miliary caseous focus with soft content in the left lower lobe	encap. caseous focus	—
16	14 ♂	530 g	4 mg	//	0.4×0.4cm round-focus with capsula and without softening of contents in the right lower lobe	insp. cavity	—
17	14 ♂	530 g	4 mg	//	coexistence of caseous focus with unclear border and granular tissue in the left lower lobe	caseous focus (cheesy pneumonia)	—
18	15 ♂	480 g	4 mg	//	miliary disseminated focus in the left and right lower lobes	encap. caseous focus	—

Abbrev. encap. caseous focus.....encapsulated caseous focus
 insp. cavity.....inspissated cavity

Table 2. Z.-N. method

	form of bacilli number of specimen	clumped type				single bacillus				number of single bacillus	tendency of transformed bacilli	culture results
		elongated bacilli	medium bacilli	short-formed bacilli	granular-formed bacilli	elongated bacilli	medium bacilli	short-formed bacilli	granular-formed bacilli			
cavity	No. 3	1	8			35 (21%)	12 (72%)	13 (7%)	0 (0%)	168	11(6%)	+
	No. 9	1	2			35 (43%)	43 (52%)	4 (5%)	0 (0%)	82	1(1%)	+
	No. 8		8			30 (26%)	78 (67%)	9 (7%)	0 (0%)	117	0(0%)	+
	No. 10		7			28 (17%)	130 (77%)	12 (6%)	0 (0%)	170	10(6%)	+
	No. 12	1	10			22 (15%)	110 (75%)	14 (10%)	0 (0%)	146	3(2%)	+
caseous focus	No. 1		3			2	35	7	0	44	5(11%)	+
	No. 2		4	1		4	38	9	0	51	4(8%)	+
	No. 4		4	2		14	59	7	0	80	4(5%)	+
	No. 5	1	10			22	87	17	0	127	4(3%)	+
	No. 6		1			1	20	4	0	25	2(8%)	-
	No. 7	1	16			18	86	13	0	117	15(13%)	+
	No. 11	(insp. cavity)	7	9		0 (0%)	59 (61%)	38 (39%)	0 (0%)	97	20(22%)	+
	No. 13		2			3	59	6	0	68	2(3%)	+
	No. 14		2			1	37	6	0	44	3(7%)	+
	No. 15		2			5	43	5	0	53	4(8%)	-
	No. 16	(insp. cavity)	1	1		0 (0%)	21 (72%)	8 (28%)	0 (0%)	29	6(21%)	-
	No. 17		2			2	32	9	0	43	5(11%)	-
	No. 18		1			1	15	4	0	20	2(10%)	-

Table 3. The tendency of transformed bacilli according to the lesions by the Z.-N. method

lesion tendency of transformed bacilli		cavity	encap. caseous focus	insp. cavity
above	21%	0 (0%)	0 (0%)	2 (100%)
11 —	20%	0 (0%)	3 (27%)	0 (0%)
below	10%	5 (100%)	8 (73%)	0 (0%)

Table 4.

Kuroda's method

	form of bacilli	clumped type				single bacillus				number of single bacillus	stainability		culture result
		elongated bacilli	middle bacilli	short-formed bacilli	granularformed bacilli	elongated bacilli	middle bacilli	short-formed bacilli	granularformed bacilli				
cavity	No. 3	2	8			35	145	14		194	red braun	good stained	+
	No. 9		3			25	71	8		104	"	"	+
	No. 8	2	9			40	78	19		137	"	"	+
	No.10	1	9			29	131	18		178	"	"	+
	No.12	2	10			40	88	11		139	"	"	+
caseous focus	No. 1		4			4	38	10		52	"	"	+
	No. 2		4	2		8	46	17		71	"	"	+
	No. 4		5			18	51	10		79	"	"	+
	No. 5		3	20	1	46	118	21		185	"	"	+
	No. 6		2			5	28	11		44	"	"	-
	No. 7		16	1		19	80	26		125	red violett	light stained	+
	No.11	insp. cavity	5	7		1	48	75		124	red braun	good stained	+
	No.13		3			7	52	9		68	"	"	+
	No.14		2			2	36	11		49	"	"	+
	No.15		1			4	44	7		55	"	"	-
	No.16	insp. cavity	2			1	36	6		43	"	"	-
	No.17		2			11	49	9		69	"	"	-
	No.18	1	1	1		3	22	7		32	"	"	-

Z-N 法により菌数を見ると、第7表 (a) に見る様に化学療法非施行例に比べて一般に菌数は著しく少ないが、培 (+) 群では培 (-) 群より菌数は多く又抗結核剤の種類による菌数の差異は認められない。

病巣別に菌数を比較すると、化学療法非施行例と同様空洞では菌数は多く、中桿菌を主とし INH 群の1例では少々長桿菌増加の傾向が認められるが PAS 群の1例では必ずしも長桿菌傾向を示さず、又異常伸長型は認められなかった。

被包乾酪巣では、空洞に比べると菌数は少く、且つ短桿菌傾向を示す例が多く認められた。

次に変形菌傾向は総体的には20%以上の例が多く、一般に分節状の痩せた形態の菌が多く見られ、第7表 (b) に示す様に、非施行例と比較すると明らかに増加しているが、顆粒型は認められなかった。

又変形菌傾向と培養成績との間には関聯性は認められなかった。

又感作群と無感作群の同種病巣で菌形態を比較し、

著明な差異は認められない。

次に抗結核剤の種類による菌形態を比較すると、第7表 (c) に示す様に、SM 治療群では PAS, INH 群に比べて変形菌傾向は増加している。又菌長の変化を見ると SM, PAS 群では著明ではないが、INH 群では、No.28, No.31 の様に伸長傾向をとる例が認められた。

黒田法に於ける染色性について見ると、第8表の様に、非施行例に比し赤紫色の淡染型が多く認められ特に SM 群ではこの傾向がつよく PAS 群では反対に比較的良染型が多く認められた。又黒田法の染色性と培養成績との関係について見ると、淡染型は何れも培 (-) 群に認められた。

次に A.-F.-G. 法に於ける抗酸性率について見ると、第9表 (a) の様に、20%以下のものが多く、第9表 (b) に示す様に、非施行例に比べると総体的に減少するが、空洞では非施行例と同様被包乾酪巣に比し抗酸性率は少々高く、培養成績との関係を見ると、

Table 5.

A.-F.-G. method

	form of bacilli	single bacillus				number of single bacillus	rate of acid-fast form	culture- result
		elongated bacilli	medium bacilli	short- formed bacilli	granular- formed bacilli			
cavity	No. 3	29	142	18	0	189	64(34%)	+
	No. 9	41	59	5	0	105	45(43%)	+
	No. 8	46	93	22	0	161	59(37%)	+
	No.10	41	152	20	0	213	89(42%)	+
	No.12	22	64	1	0	87	42(48%)	+
caseous focus	No. 1	3	42	8	0	53	17(32%)	+
	No. 2	4	48	7	0	59	16(27%)	+
	No. 4	14	54	16	0	84	29(35%)	+
	No. 5	37	110	27	0	174	51(29%)	+
	No. 6	4	32	7	0	43	14(32%)	-
	No. 7	47	82	10	0	139	62(45%)	+
	No.11	0	57	46	0	103	35(34%)	+
	No.13	6	61	9	0	76	27(35%)	+
	No.14	2	39	8	0	49	18(37%)	+
	No.15	4	49	21	0	74	22(30%)	-
	No.16	1	31	11	0	43	16(37%)	-
	No.17	4	42	13	0	59	18(30%)	-
	No.18	3	19	7	0	29	8 (28%)	-

rate of acid-fast form	culture-result	
	+	-
above 41%	4 (30%)	0 (0 %)
21—40%	9 (70%)	5 (100%)
below 20%	0 (0 %)	0 (0 %)

Table 6. Z.-H. method

	form of bacilli number of specimen	single bacillus				number of single bacillus	rate of easily-stainable form	culture- result
		elongated bacilli	medium bacilli	short- formed bacilli	granular- formed bacilli			
cavity	No. 3	36	151	19	0	206	40(20%)	+
	No. 9	16	67	13	0	96	13(14%)	+
	No. 8	33	95	8	0	136	17(13%)	+
	No. 10	46	152	20	0	218	42(19%)	+
	No. 12	25	72	3	0	110	27(25%)	+
caseous focus	No. 1	4	47	11	0	62	18(29%)	+
	No. 2	6	51	14	0	71	23(34%)	+
	No. 4	13	55	10	0	78	25(32%)	+
	No. 5	45	162	67	0	274	11(4%)	+
	No. 6	3	32	9	0	44	16(36%)	-
	No. 7	21	104	12	0	137	15(11%)	+
	No. 11	2	74	55	0	131	22(16%)	+
	No. 13	6	57	7	0	70	16(23%)	+
	No. 14	2	32	8	0	42	9(21%)	+
	No. 15	7	59	11	0	77	25(32%)	-
	No. 16	5	39	8	0	52	32(61%)	-
	No. 17	4	49	14	0	67	15(22%)	-
	No. 18	1	26	8	0	35	11(30%)	-

rate of easily-stainable form		culture-result	
		+	-
above	41%	0 (0%)	1 (20%)
	21-40%	6 (47%)	4 (80%)
below	20%	7 (53%)	0 (0%)

Table 7. (a) Chemotherapy cases Z.-N.method

number of specimen	presence of sensitization	character of lesions	clumped type				singlebacillus			number of single bacillus	tendency of transformed bacilli	characteristic of form of bacilli	culture- results	
			elong- ated bacilli	med ium bacilli	short- formed bacilli	granu- lar formed bacilli	elong- ated bacilli	med ium bacilli	short- formed bacilli					granu- lar formed bacilli
No. 22	sensitized	miliary, nodular	}	2 SM	2 group		2	14	3	0	19	4 (21%)	segmented, slender	—
No. 23	sensitized	encap. caseous focus					6	23	12	0	41	20(49%)	segmented,	—
No. 24	sensitized	encap. caseous focus					1	23	7	0	31	9 (29%)	slender, slender	—
No. 25	non- sensitized	miliary, nodular	}	2	2		2	24	6	0	32	10(31%)	disorder of body of bacilli	—
No. 19	sensitized	cavity					6	38	7	0	51	15(29%)	non- existence	+
No. 20	sensitized	encap. caseous focus					5	63	8	0	76	10(14%)	"	+
No. 29	sensitized	encap. caseous focus	}	3 PAS	group		3	21	3	0	27	4 (15%)	"	—
No. 30	non- sensitized	miliary, nodular					4	18	7	0	29	7 (24%)	"	—
No. 21	non- sensitized	encap. caseous focus					10	17	12	0	39	9 (23%)	"	—
No. 26	sensitized	cavity	}	2	1		16	63	10	0	89	17(19%)	"	+
No. 27	sensitized	encap. caseous focus					2	15	4	0	21	4 (19%)	"	—
No. 28	non- sensitized	encap. caseous focus					15	56	3	0	74	13(18%)	tendency of elongated babilli	+
No. 31	sensitized	encap. caseous focus	}	2	group		4	12	1	0	17	4 (24%)	slender, segmented	—

Table 7. (b)

tendency of transformed bacilli		cavity		encap. caseous focus	
		chemothe- rapy cases	non-chemo- therapy cases	chemothe- rapy cases	non-chemo- therapy cases
above	21%	1		7 (63%)	2 (15%)
	11—20%	1		4 (37%)	3 (23%)
below	10%		5		8 (62%)

Table 7. (c)

tendency of transformed bacilli	anti- tuberculous agents	SM	PAS	INH
		group	group	group
above	31%	2		
	21~30%	2	2	2
	11~20%		2	3

Table 8.

Chemotherapy cases

Kuroda's method

number of speci- men	treatment- agents	single bacillus				number of single bacil- lus	stainability	culture- results
		elonga- ted bacilli	medi- um bacilli	short- formed bacilli	granu- lar formed bacilli			
No. 22	SM	7	16	7	0	30	red-violett, light stained- type numerous	—
No. 23		17	59	19	0	95	"	—
No. 24		7	37	11	0	55	"	—
No. 25		5	51	10	0	66	"	—
No. 19	PAS	15	55	10	0	80	good stained type } mixed	+
No. 20		8	54	10	0	72	light stained type } good stained type numer- ous,	+
No. 29		11	32	3	0	46	rarely light stained type good stained type numerous	—
No. 30		6	24	5	0	35	light stained type numerous	—
No. 21	INH	5	31	7	0	43	good stained type numerous	—
No. 26		13	62	11	0	86	good stained type } mixed	+
No. 27		5	25	5	0	35	light stained type numerous	—
No. 28		12	62	7	0	81	good stained type } mixed	+
No. 31		4	18	3	0	25	light stained type } "	—

Table 9. (a)

chemotherapy cases

A.-F.-G. method

number of specimen	character of lesions	treatment-agents	single bacillus				number of single bacillus	rate of acid-fast form	culture-results
			elongated bacilli	medium bacilli	short-formed bacilli	granular formed bacilli			
No. 22	miliary, nodular	SM	4	20	4	0	28	2 (8%)	-
No. 23	encap. caseous focus		3	40	14	0	57	12(21%)	-
No. 24	encap. caseous focus		2	30	13	0	47	5 (11%)	-
No. 25	miliary, nodular		4	26	5	0	35	6 (18%)	-
No. 19	cavity	PAS	8	51	5	0	64	15(24%)	+
No. 20	encap. caseous focus		17	66	5	0	88	18(21%)	+
No. 29	encap. caseous focus		1	27	8	0	36	5 (13%)	-
No. 30	miliary, nodular		8	26	16	0	50	8 (16%)	-
No. 21	encap. caseous focus	INH	5	29	6	0	40	5 (13%)	-
No. 26	cavity		20	58	20	0	98	27(28%)	+
No. 27	encap. caseous focus		14	26	2	0	42	5 (12%)	-
No. 28	encap. caseous focus		11	42	13	0	66	15(22%)	+
No. 31	encap. caseous focus		6	18	5	0	29	4 (14%)	-

Table 9 (b)

rate of acid-fast form		cavity		encap. caseous	
		chemotherapy case	non-chemotherapy cases	chemotherapy case	non-chemotherapy cases
above	41%	0 (0%)	3 (60%)	0 (0%)	1 (8%)
	21~40%	2 (100%)	2 (40%)	3 (26%)	12 (92%)
below	20%	0 (0%)	0 (0%)	8 (74%)	0 (0%)

Table 9 (c)

rate of acid-fast form		culture-results	
		+	-
above	21%	4 (100%)	1 (11%)
	11~20%	0 (0%)	7 (78%)
below	10%	0 (0%)	1 (11%)

Table 10. (a) chemotherapy cases Z.-H method

number of specimen	character of lesions	treat- menta- gents	single bacillus				number of single bacillus	rate of easily-stainable form	culture-results
			elongated bacilli	medium bacilli	short-formed bacilli	granular formed bacilli			
No. 22	miliary, nodular	SM	1	15	2	0	18	16(89%)	—
No. 23	encap. caseous focus		4	17	4	0	25	19(76%)	—
No. 24	encap. caseous focus		0	31	6	0	37	20(54%)	—
No. 25	miliary, nodular		4	31	2	0	37	21(57%)	—
No. 19	cavity	PAS	7	27	5	0	39	18(46%)	+
No. 20	encap. caseous focus		4	24	5	0	33	26(79%)	+
No. 29	encap. caseous focus		5	24	2	0	31	23(74%)	—
No. 30	miliary, nodular		1	20	3	0	24	19(79%)	—
No. 21	encap. caseous focus	INH	3	13	6	0	22	19(86%)	—
No. 26	cavity		10	37	3	0	50	21(42%)	+
No. 27	encap. caseous focus		2	13	1	0	16	14(88%)	—
No. 28	encap. caseous focus		13	40	1	0	54	47(87%)	+
No. 31	encap. caseous focus		4	18	2	0	24	16(68%)	—

Table 10. (b)

rate of easily-stainable form		cavity		encap. caseous focus	
		chemotherapy case	non-chemotherapy case	chemotherapy case	non-chemotherapy case
above	41%	2 (100%)	0 (0%)	11(100%)	1 (8%)
	21~40%	0 (0%)	1 (20%)	0 (0%)	9 (69%)
below	21%	0 (0%)	4 (80%)	0 (0%)	3 (23%)

Table 10 (c)

rate of easily-stainable form		culture-results	
		+	—
above	71%	2 (50%)	6 (67%)
	51~70%	0 (0%)	3 (33%)
below	50%	2 (50%)	0 (0%)

第9表) c) に示す様に、培(一)群では培(十)群に比し抗酸性率は減少する。

又抗結核剤の種類により同種病巣で、抗酸性率を比較し著明な差異は認められなかった。

次に Z-H 法に於ける易染性率については、第10表(a)の如くで、第10表(b)に示す様に、非施行例と比較すると、総体的に著しく増加するが、病巣別に見ると、非施行例と同様に空洞では被包乾酪巣より易染性率は低く、又易染性率と培養成績との関係については、第10表(c)に示す様に、培(一)群では培(十)群に比し易染性率は増加する傾向が認められる。又薬剤の種類による易染性率の差異は認められなかった。

IV. 総括並に考按

1. 実験的肺結核空洞形成に対する条件の検討

海狸に於て、気道内感染により肺結核病巣の形成を試みたが、無感作群と感作群で病巣の出来方を比較すると、無感作群では粟粒大の結節性病巣を認めたのみで、空洞の形成は見られず、感作群では空洞形成が認められた。この点、従来の河野⁵⁾、神山⁶⁾等の報告と相反する成績を示し、結核性空洞形成は抗原・抗体反応によつて、より多く認められるという山村の見解に賛成する。

次に気管内注入菌量と病変との関係について見ると、当初著者は 2 mg を用いたが、この場合、空洞形成率は20%で、4 mg 注入の場合は46%であつた。神山・北沢⁶⁾は家兎を用い人型菌 25mg 及び 5 mg を気管内に注入し、肺病変を X 線学的に追究し、菌量 5 mg の場合は 25mg の場合に比べ陰影の発現は遅れるが、その後の経過には大差がないと述べているが、本実験では菌量の多い方が空洞形成率は優れていた。

2. 菌形態、染色性と培養成績との関係の検討

化学療法非施行例に於て、少数例乍ら塗(十)・培(一)例が認められたが、之は最近化学療法が盛んに行われる様になつてから特に注目され、化学療法の影響によつて招来されるかの様な印象を一般に与えているが、之については、Canetti¹⁰⁾が既に化学療法以前の剖検例で認めて居り、本実験でもこの様な場合の有ることを裏付けするものである。然し乍ら化学療法例に於ては、非施行例に比し塗(十)・培(一)例は明らかに増加して居り、化学療法によつて、病巣性状の好転と共に塗(十)・培(一)例が増加することは明らかである。

又この様な例は、空洞には認められず、何れも被包

乾酪巣に於けるものであり、第1編で述べた塗(十)・培(一)は、被包乾酪巣に多いという事実とよく一致している。

次に塗(十)・培(一)例に於ける菌形態については、前回の切除肺病巣内菌に於ては、短桿菌並に、顆粒化傾向を示すものが多かつたが、本実験では特有な菌形態を見出すことは出来なかつた。

又化学療法非施行例、施行例共に変形菌傾向と培養成績との間には、関聯性が認められず、唯両者共に培(一)化するにつれて菌数は減少して居り、既述の切除肺病巣内菌所見と一致している。

次に培養成績と染色性との関係であるが、先ず黒田法に於ける菌の染まり方を見ると、既に第1編で述べた様に、赤褐色乃至紫黒色の良染型と、赤紫色の淡染型が認められ、切除肺所見ではこの染色性と培養成績との間には、必ずしも関聯性が認められず、又 A-F-G 法の抗酸性率の推移とも必ずしも一致しなかつたが、著者は淡染型移行するにつれて抗酸性が低下するものと推測した。本実験の化学療法非施行例では、1例を除き何れも良染型であり、化学療法例に於ては淡染型が増加し、而も淡染型は何れも培(一)例に認められ、又黒田法の染色性と A-F-G 法の抗酸性率とは、よく一致している。以上の成績から黒田法に於ける染色性の推移は、抗酸性の推移を示すものと認めることが出来る。

次に A-F-G 法の抗酸性率と培養成績との関係については、化学療法非施行例、施行例共に培(一)になるにつれて抗酸性率は減少し、培養成績と抗酸性の推移はよく平行し、前回の切除肺病巣内菌所見と一致する。

然し乍ら Z-H 法に於ける易染性率については、化学療法非施行例、施行例共に培(一)群では培(十)群に比し、易染性率は増加する成績を得た。

3. 動物実験例と切除肺との菌形態、染色性の比較

動物実験例と切除肺例では、化学療法の施行期間が異なるので、両者を比較することは当を得ない様にも思われるが、先ず変形菌傾向について本実験の化学療法例と前編の切除肺病巣例を比較すると、第11表の様に、空洞では切除肺例に変形菌傾向軽度のものが多く、被包乾酪巣では両者に差を見ない。又 A-F-G 法に於ける抗酸性率についても両者は略々一致している。然し乍ら Z-H 法に於ける易染性率について比較すると、切除肺病巣内菌所見とは、かなり異つた成績を示している。即ち、切除肺の空洞では易染性率の低い例が多いが、本実験例では易染性率の高い例が多

Table 11. (a) The comparison of the tendency of transformed bacilli by the Z.-N. method

cavity		
tendency of transformed bacilli	guinea-pig	resected pulmonary lesion
above 20%	1 (50%)	4 (15%)
11~20%	1 (50%)	10 (37%)
below 10%	0 (0%)	13 (48%)

encap. caseous focus		
tendency of transformed bacilli	guinea-pig	resected pulmonary lesion
above 21%	7 (63%)	31 (78%)
11~20%	4 (37%)	8 (20%)
below 10%		1 (2%)

(b) The comparison of the rate of acid-fast form by the A.-F.-G. method

cavity		
rate of acid-fast form	guinea-pig	resected pulmonary lesion
above 41%	0 (0%)	11 (42%)
21~40%	2 (100%)	8 (31%)
below 20%	0 (0%)	7 (27%)

encap. caseous focus		
rate of acid-fast form	guinea-pig	resected pulmonary lesion
above 41%	0 (0%)	5 (10%)
21~40%	3 (26%)	10 (19%)
below 20%	8 (74%)	36 (71%)

(c) The comparison of the rate of easily-stainable form by the Z.-H. method

cavity		
rate of easily-stainable form	guinea-pig	resected pulmonary lesion
above 41%	2 (100%)	2 (11%)
21~40%	0 (0%)	3 (16%)
below 20%	0 (0%)	14 (72%)

encap. caseous focus		
rate of easily-stainable form	guinea-pig	resected pulmonary lesion
above 41%	11 (100%)	15 (30%)
21~40%	0 (0%)	17 (35%)
below 20%	0 (0%)	17 (35%)

く、一般に切除肺に比べると易染性率は高率を示している。

4. 化学療法により菌形態、染色性の受ける変化の検討。

化学療法非施行例を対象として化学療法により菌形態、染色性の受ける変化を総合的に検討すると、化学療法により病巣の治癒するに伴い菌数は減少し、菌形態の変形が著しくなり、且つ短桿菌傾向をとる例が多くなり、A.-F.-G.法の抗酸性率は低下する傾向が認められ、且つ前述の様な培養成績との関係を認め、切除肺病巣内菌所見と一致する成績が得られた。唯切除肺例に見られた顆粒型を認めることが出来なかつたが、之は治療期間が比較的短かつたことに帰因するものかと思われる。

一方病巣別の菌形態を比較しても、空洞では菌数は多く、長桿菌傾向をとる、A.-F.-G.法の抗酸性率は

他病巣に比し高率を示すなど、切除肺所見と同様な結果が認められた。

化学療法非施行例に於ては、乾酪巣では変形の少い中桿菌を主とし、病巣の軟化空洞化に伴い長桿菌傾向をとり、A.-F.-G.法の抗酸性率が増加し、濃縮化の過程に伴い漸次抗酸性率は減少し、短桿菌傾向並に菌形態の変形が増加する傾向が認められ、隈部¹¹⁾の報告と一致するがこの傾向は、化学療法により一層顕著になっている。

唯Z.-H.法に於ける易染性率については、化学療法非施行例に於ては、空洞では乾酪巣よりも易染性率は低く、又化学療法例に於ても同様な結果が認められ、且つ化学療法例では非施行例に比べて易染性率は増加して居り、又培養成績との関係については、既に述べた通りである。著者は既に前回までの実験で、易染性型の消長は植田¹²⁾の見解とは必ずしも一致しな

いことを述べたが、本実験の成績も、植田の記載と一致せず、又伊藤¹⁴⁾は易染性型の消長と培養成績が、不一致を示す場合のあることを指摘しているが、本実験例ではむしろ相反する成績を得ている。従つて易染性型を結核菌の発育型と見做す植田の見解²⁾には必ずしも賛成出来ない。

5. 抗結核剤の種類による菌形態、染色性の差異についての検討。

抗結核剤の種類による菌形態の変化については、SM 使用群では PAS, INH 群に比べて菌形態の変形がつよいが、化学療法により変形菌傾向が増加すると云う著者の成績からすれば、SM の病巣内抗菌作用は PAS, INH に比し優れていると云えると思う。

次に試験管内実験、喀痰中菌検索等に於て、抗結核剤の種類による菌長の変化が種々報告されているが、必ずしも一致した見解を示すに至っていない。安元¹⁴⁾、馬場¹⁵⁾は試験管内実験で、SM の作用により菌は伸長形態を取ると述べているが、本実験では SM による菌長の変化は認められなかつた。又 PAS については、馬場¹⁵⁾は短縮形態が少々勝るが、高濃度では伸長形態が著明であつたと述べているが、本実験では PAS に特有な菌長の変化は認められなかつた。唯 PAS 治療群の空洞では培(+)であつたが長桿菌傾向を示さず、反対に短桿菌増加の傾向が認められたので、この成績からすれば PAS により菌長は短縮傾向をとるものとも考えられる。又 INH については、三友¹⁶⁾は喀痰中結核菌は INH により短縮すると述べ、馬場¹⁵⁾も試験管内実験で同様な報告を行つているが、福留¹⁷⁾は喀痰中菌検索により INH では最初短縮し、後伸長する傾向が認められたと述べて居り、必ずしも意見の一致を見ないが、本実験例では伸長形態をとる傾向を認めた。この様に不一致を示す点については病巣内には菌発育阻止物質¹⁸⁾、溶菌酵素¹⁹⁾等が認められ、試験管内と条件が異なるので両者に於ける菌形態は必ずしも比較出来ないと思われるし、又本実験では治療期間が比較的短かつたためかとも考えられる。

次に抗結核剤の種類による結核菌の染色性の変化については、伊藤²⁰⁾は試験管内実験に於て、SM では全般的な染色性の低下を認め、INH では顕著な顆粒形成と抗酸性の消失を特徴とした変化を来すと述べているが、本実験では化学療法剤の種類による抗酸性の減少の差異は著明ではなかつたが、黒田法による染色性から見ると SM の作用による抗酸性の減少は PAS, INH に比し最もつよく、PAS では抗酸性に及ぼす影響は最も少いと云うことが出来る。

V. 結 論

海猿36匹を感作群、無感作群に分け、人型菌 H₃₇Rv 株の気管内注入により肺結核病巣を形成し、化学療法非施行例中、Z.-N. 法で抗酸性菌陽性の18病巣、化学療法例中 SM, PAS, INH 各単独治療の菌陽性の13病巣につき病巣内容の塗抹標本について、Z.-N. 法、黒田法、A.-F.-G. 法、Z.-H. 法を併用し、化学療法非施行例を対象として化学療法による病巣内結核菌の形態学的変化、並に抗結核剤の種類による菌形態、染色性の差異について検索し、次の結果を得た。

1. 化学療法非施行例の乾酪巣では、中桿菌を主とし、軟化空洞化に伴い長桿菌傾向と共に A.-F.-G. 法の抗酸性型が増加し、濃縮化に伴い短桿菌傾向と共に菌形態の変形が増加する。

一方、化学療法による菌は次第に抗酸性を失うと同時に繊細化し短縮型が多くなり菌形態の変形は更に著明となる。

2. 抗結核剤の種類による菌形態、染色性の差異を見ると、MS では菌長の変化は著明でなく菌形態の変形、抗酸性の低下は PAS, INH に比し最も著しい。

PAS による菌長の変化も著明でないが、抗酸性に及ぼす影響は最も少い。

INH では菌の伸長形態が勝つている。

3. 感作群と無感作群で菌形態、染色性を比較し著明な差異を認めない。

4. 化学療法非施行例に於ても塗(+)・培(-)例を認めるが、化学療法により塗(+)・培(-)は増加する。塗(+)・培(-)例に於ては塗(+)・培(+)例に比し菌数が減少する他、特有な菌形態は認められない。

A.-F.-G. 法の抗酸性型は病巣好転に伴い減少し又その推移は培養成績と一致する。

Z.-H. 法の易染性型は病巣好転に伴い増加し又その推移は培養成績と一致しない。

本論文の要旨は、昭和32年10月、日本結核病学会、中国・四国地方会、第8回総会に於て発表した。

終りに御指導、御校閲を賜つた小坂淳夫教授に深謝する。又終始御指導、御鞭撻を賜つた岩原定可博士に謝意を表し、本研究に対し種々御便宜をお図らい願つた本院長、渡辺真澄博士、並に御協力を頂いた外科医長、井出愛邦博士に感謝する。

文 献

- 1) Domagk : Am. Rev. Tuberc., 61, 8-19, 1955.
 - 2) 占部薫 : 最新医学, 6 : 106, 1951.
 - 3) 山村雄一 : 結核, 29 : 4, 143—146, 1954.
 - 4) 和田 直 : 結核, 31 : 総会号, 1956.
 - 5) 清野博 : 結核, 6 : 1255—1331, 1928.
 - 6) 神山英明・北沢幸夫 : 結核, 26 : 8, 384—390, 1951.
 - 7) 北沢幸夫 : 日本病理学会会誌, 40—総会.
 - 8) 神山英明・北沢幸夫 : 結核, 28 : 3, 128—131, 1953.
 - 9) 黒岩翠 : 結核, 31 : 4, 193—199, 1956.
 - 10) Canetti : Am. Rev. Tuberc., 10, 26, 1946.
 - 11) 隈部英雄 : 人体内に於ける結核菌の生態, 保健同人社, 1949.
 - 12) 植田三郎 : 結核菌の研究, I, 形態及び発育様式, 1951.
 - 13) 伊藤義昭 : 結核, 29 : 4, 138—142, 1954.
 - 14) 安元健児 : レプラ, 22 : 2, 85—91, 1953.
 - 15) 馬場 真 : 結核, 30 : 総会号, 1955.
 - 16) 三友義雄 : 日本臨床結核, 11 : 445, 1952.
 - 17) 福留 徹 : 臨床と研究, 30 : 1, 86, 1953.
 - 18) 植田三郎 : 日本臨床結核, 14 : 2, 123—162, 1955.
 - 19) Dobos : Am. Rev. Tuberc., 65, 638-639, 1952.
 - 20) 伊藤義昭 : 結核, 32 : 総会号, 1957.
-

Studies on the Morphology and Stainability of Tubercle Bacilli in the Excised Tuberculous Focus

Part 3. Influences of Antituberculous Agent on the Shape and Stainability of Tubercle Bacilli in the Experimental Tuberculous Focus

Kyotaro Hatsushika

Department of Internal Medicine Okayama University Medical School

(Director : Prof. Kiyowo Kosaka)

Iwakuni National Hospital

(Vice-Director : Dr. S. Iwahara)

Tuberculous foci are induced in 36 guinea pigs divided into a sensitized group and a non-sensitized group, by intrabronchial injection of human tubercle bacilli, H₃₇Rv strain. Of the group given nonchemotherapy 13 foci proved to be acid fast bacillus positive by Z.-N. test are taken as the control. Of the group receiving chemotherapy of SM, PAS, or INH singly, 13 foci proved to be bacillus positive are selected. With smear specimens prepared from the contents of these foci in the two groups and by means of Kuroda test, A.-F.-G. test and Z.-H. test concurrently, the authors studied morphological changes of tubercle bacilli in the focus as well as differences in the shape and stainability of bacilli due to the kinds of antituberculous agents; and obtained the following results.

1. In the caseous foci that received no chemotherapy mainly intermediate bacilli are found, and along with softening and subsequent cavitation long bacilli and acid fast type of bacilli by A.-F.-G. test tend to increase. And with inspissation there appear an increasing number of short bacilli as well as more deformed bacilli.

On the other hand, bacilli in the case receiving chemotherapy gradually lose their acid resistance and at the same time they become fibrous, showing an increasing number of short bacilli and more marked deformation.

2. Examining differences in the shape and stainability of bacilli due to different kinds of antituberculous agents employed, in the case given SM the change in the length is not so marked, but the deformation of bacilli as well as the fall in the acid resistance are most marked when compared with the case of PAS- and INH-administrations. Change in the length of bacilli in the case of PAS administration is likewise not so marked, but the effect exerted on the acid resistance is least. In the case of INH administration the lengthening of bacilli is most striking.

3. There can be found no marked differences in the shape and stainability of bacilli between the sensitized group and the non-sensitized group.

4. Even in the group given no chemotherapy bacilli of stain (positive) and culture (—) can be recognized, and although those of stain (positive) and culture (positive) are increased by chemotherapy, no other specific deformation can be observed.

The acid fast bacilli by A.-F.-G. test decrease along with the improvement of the focus, and such a change does not coincide with the culture result.