

切除肺病巣内結核菌の生物学的、 細菌学的性状に関する研究

第 2 編

切除肺病巣内結核菌と毒力について

国立岩国病院(指導: 副院長岩原定可博士)
岡山大学医学部内科学教室(指導: 小坂淳夫教授)

池 田 宏

〔昭和 34 年 5 月 8 日受稿〕

緒 言

既に第 1 編で述べた如く、Medlaretal の報告に端を発した術前化学療法を受けた患者の切除肺病巣内結核菌の、塗抹陽性、培養陰性の問題は、臨床的にはかかる結核菌を含む病巣を果してそのまま放置してよいものか、あるいは切除すべきかという治療上の重要な課題と結びついて、培養方法の改良をはじめ種々の方向から、多数の学者によりその本態の解明が試みられている。然しまだ決定的な解決をみるに至らない現状であり、かかる塗抹陽性、培養陰性を示す結核菌が閉鎖、被包され且つ内容が融解性でなくなった病巣に多いことは、多くの成績が一致している点であり、第 1 編で得た成績でも同様であつたが、たとえ死んでいるとはいえないまでも、正常の結核菌とは可成異つた生理状態にあることは当然考えられる点である。しからば従来の培養法で陽性を示した病巣内結核菌の中にも、手術直前まで排菌していた空洞から分離したものと、培養陰性例の多い閉鎖、被包され内容が融解性でなくなった様な病巣から分離したものの間には、その属していた病巣の性状に応じて、正常の生理状態を呈するものから、生きてはいるが塗抹陽性、培養陰性といった菌に近い生理状態を呈するものまでの種々の段階の結核菌が存するのではなからうか。以上の様な推測のもとに病巣内菌の培養陽性例につき、その毒力を系統的に検べた報告は極めて少い。そこでこの点の解明を試み、若干の知見を得たので報告する。

実験材料及び実験方法

実験材料

切除肺の各種病巣より分離した結核菌 40 株をえらび、何れも培養の老化による実験結果の誤差を除くため、分離後、6 カ月以内のものを用いた。

対照としては、塗抹、培養何れも陽性の患者喀痰より分離し、同様に分離後 6 カ月以内の結核菌株 10 株、保存株としては、有毒人型菌 H₃₇ R_v 株(岡山大学医学部細菌学教室より分与を受けたもの)、有毒人型菌人 F 株(広島大学医学部細菌学教室より分与を受けたもの)、無毒人型菌 H₃₇ R_a 株及び非病原性抗酸性菌 *Micobacterium Phlei* (何れも岡山大学医学部細菌学教室より分与を受けたもの)を用いた。

実験方法

動物実験: 市販の D-D 系マウスで、体重 15~20 g の主として雄を用い、固形飼料 Oriental Pellet Diet Mc 5 とキャベツ及びクローバで飼育した。接種菌液は各対照菌株、病巣内菌株共に Sauton 培地 2 週培養の菌苔から beads flask 法で湿菌量 1 mg/cc の菌液を作り、この 0.1 cc 即ち菌量にして 0.1 mg 宛を、対照菌株は各株 5 匹宛のマウスの尾静脈へ接種し、病巣内菌株は夫々 4 匹宛のマウスの尾静脈へ接種した。接種後、体重の減少、生存期間を観察し、途中死亡したものはその都度、生存したものは 5 週後に全部屠殺し、肺、脾、肝につき肉眼的病変を観察し、且つ脾重量を測定した。又これら 3 臓器中、肺、脾は夫々臓器全体を、肝は臓器そ

のものが大きいため止むなく 500 mg をとり、ガラスホモジナイザーで 1% の苛性ソーダを用い 10² 倍に稀釈磨砕して均等化し、その 0.1 cc 宛を各臓器ごとに 3~4 本の 1% 及び 3% 小川培地に定量培養し、37°C 6 週培養の集落数で判定した。

Neutral-Red 呈色反応： (N-R と略す (Middlebrook-Dubos の原法²⁾³⁾ に従った。病巣内菌株、対照菌株共に本反応施行前一度 1% 小川培地にうえつき、その 5 週培養の集落を用いた。即ち 5 mg 余りの菌塊を 2 度 50% メタノール中で 37°C、1 時間洗い、この菌体を pH 9.2~9.6 のバルビタール緩衝液中に浮遊させ、これに 1000 倍 Neutral-Red 水溶液 0.5~1.0 cc を加え 30 分室温に放置すると毒力の強いもの程 Purpurred~Violetred に着色するといわれるが、その着色の程度に応じて Ⅲ, Ⅱ, Ⅰ, +, ±, - に区別した。

Phenolindophenol 還元反応： (P-I と略す) Patnode & Winkle²⁾¹⁾ の提唱した試験管内変法を用いた。即ち P-I 使用液 5 滴宛を毛細管ピペットで小試験管にとり、これに先の N-R 反応に用いたと

同じ集落 5~10 mg を浮遊させ、約 15 分間振盪すると毒力株では P-I の還元は起らずもとの青色の儘であるが、無毒株では P-I が還元されて菌浮遊液は白色となるといわれるが、全く還元がみられず P-I の青色がその儘不変のものを Ⅲ, 完全脱色をしたものを - とし、その間を Ⅱ, Ⅰ, +, ± に区別した。なお Sodium 2,6-Dibromobenzenone-indophenol 還元反応も同時に試みた。

Cord 形成能： 以上のほかに結核菌の毒力と関連のあるものとして、有毒株は培養液中で、形態学的に Cord といわれるものを形成することが知られているが、本実験では藤田⁴⁾の方法にならい、対照菌株及び病巣内菌株につき、10% 血清加 Kirchner 培地を用いての液内静置培養法を行い、培養 10 日後の微少集落を Ziehl-Neelsen 法で染色し、Cord 形成の程度により 4 型に分類した。

実験成績

動物実験： 先づ実験終了迄の死亡率をみると表 1 の如く、対照菌株中 H₃₇ Rv, 人 F 株接種群が最

表 1 マウス死亡率

マウス数 週	対 照 菌 株					病 巣 内 菌 株		
	H ₃₇ Rv	人 F	H ₃₇ Ra	M. phlei	喀痰菌株	空 洞	濃縮空洞	乾酪巣
	5	5	5	5	40	80	24	48
I								
II	1				1	2	1	
III		1			4	3		
IV	1	1			3	5	1	2
V					3	4	2	2
死亡率%	40%	40%			27.5%	17.5%	16.7%	8.3%

も高く、喀痰分離株接種群がこれに次ぎ、これに反し H₃₇ Ra, M. Phlei 接種群では、死亡マウスは全くみられない。病巣内菌株は概して H₃₇ Rv, 人 F

及び喀痰分離株接種群に比し死亡率が低い。その中で空洞内菌株接種群が最も高く、乾酪巣内菌株接種群が最も低い。次に体重の増減をみると表 2 の如

表 2 マウス体重の増減

マウス数 体 重	対 照 菌 株					病 巣 内 菌 株		
	H ₃₇ Rv	人 F	H ₃₇ Ra	M. phlei	喀痰菌株	空 洞	濃 縮 空洞	乾酪巣
	5	5	5	5	40	80	24	48
接種時平均体重	17.2	17.6	18.1	17.5	18.3	17.4	17.4	18.1
5 週後マウス数	3	3	5	5	29	66	20	44
5 週後平均体重	14.7	15.1	19.8	19.5	17.2	16.7	17.6	18.3
体 重 増 減	- 2.5	- 2.1	+ 1.7	+ 2.0	- 1.1	- 0.7	+ 0.2	+ 0.2

く、死亡率とはほぼ同様の傾向で、対照株中 H₃₇ Rv, 人 F 株接種群が最も体重減少が著しく、喀痰分離株接種群がこれにつぎ、H₃₇ Ra, M. Phlei 接種群ではむしろ体重の増加をみ、病巣内菌株接種群では、空洞内菌株接種群でわずかの減少をみたが、その他では極くわずかの増加をみている。

次に小川⁵⁾の方法に従い対照及び病巣内菌各株につき、接種5週後の臓器病変の程度と定量培養成績との比較を肺、脾につきみると、表3の如く(臓器

表3 (1) 肺病変と肺定量培養発生集落数

病変	集落数 201	200 101	100 51	50 31	30 21	20 11	10 1	0	計
卅	2								2
卅	3	2							5
卅	3	4	4						11
+			5	2	2	2			11
±				1	4	10	4	6	25
計	8	6	9	3	6	12	4	6	54

卅：結節が融合して多数ある

卅：虫ピン頭大の結節が多数ある

卅：虫ピン頭大の結節が少数ある

＋：点状の結節が散在する

±：肉眼的に微少な結節が僅に認められる

表3 (2) 脾病変と脾定量培養発生集落数

病変	集落数 201	200 101	100 51	50 31	30 21	20 11	10 1	0	計
卅	2	1	2	2				1	8
卅		1	4	3	4	2	1	3	18
+			4	1	2	3	2	9	21
±				1			2	4	7
計	2	2	10	7	6	5	5	17	54

卅：重量401mg以上

卅：301~400mg

卅：201~300mg

＋：100~200mg

±：100mgまで

病変の程度及び定量培養発生集落数は各マウス、各臓器の平均で表わした。肺においては病変の程度と定量培養成績がよく一致するが、脾においては両者が必ずしも一致しない。

次に各菌株につき肺、脾、肝各臓器間の定量培養成績を比較すると表4の如く、わずかの例外を除き3臓器間の発生集落数はよく比例し、肺で最も多く次いで脾、肝の順である。他方脾、肝では有毒株でも早期に菌の増殖が減退しはじめるが、肺では有毒

表4 (1) 肺、脾定量培養発生集落の比較

肺集落数	脾集落数 201	200 101	100 51	50 31	30 21	20 11	10 1	0	計
~201	2	2	3	1					8
200~101			4	2					6
100~51			2	3	4				9
50~31					1	2			3
30~21			1			3	1	1	6
20~11				1			3	8	12
10~					1		1	2	4
0							0	6	6
計	2	2	10	7	6	5	5	17	54

表4 (2) 肺、肝定量培養発生集落の比較

肺集落数	肝集落数 201	200 101	100 51	50 31	30 21	20 11	10 1	0	計
~201		1	2	4			1		8
200~101				3	3				6
100~51					1	4	2	2	9
50~31						1	1	1	3
30~21							1	5	6
20~11							2	10	12
10~								4	4
0								6	6
計		1	2	7	4	5	7	28	54

株の場合、長期にわたり菌の増殖がみられることが知られている⁵⁾⁶⁾。これらの理由から便宜上肺定量培養成績をもつて以後動物実験における結核菌毒力制定の代表とする。

対照及び病巣内菌株につき、肺定量培養成績をみると表5の如く、対照菌株中 H₃₇ Rv, 人 F 株は何れも多数の集落発生を見、喀痰分離株では10株すべ

表5 各菌株と肺定量培養成績

菌株	肺集落数 株数	201	200 101	100 51	50 31	30 21	20 11	10 1	0
H ₃₇ Rv	1	1							
人 F	1	1							
喀痰株	10	2	3	5					
H ₃₇ Ra	1								1
M. phlei	1								1
病巣内株	40	4	3	4	3	6	12	4	4

て100~51コ以上の集落発生を見、中2例20%に201コ以上の集落発生を見た。これに対し病巣内菌株中、201コ以上の集落発生をみたものは、僅かに4例10%に過ぎず、全40例中20例50%が20コ以下の集落発生をみたに過ぎず、明らかに H₃₇ Rv, 人 F 及び喀痰分離菌株に比し弱毒といえるが、その詳細に関しては改めて後述する。なお対照菌株中 H₃₇ Ra, M. Phlei では全く集落の発生がみられなかった。

Neutralred 呈色反応： 対照及び病巣内菌株につき、本反応による呈色度を見ると、表6の如く

表6 各菌株と Neutralred 呈色反応

N-R 反応		+++	++	+	±	—
菌株	株数					
H ₃₇ Rv	1	1				
人 F	1	1				
喀痰株	10	3	6	1		
H ₃₇ Ra	1				1	
M. phlei	1					1
病巢内株	40	1	10	13	12	4

H₃₇ Rv, 人 F 株は強度の赤変を示し、喀痰分離菌株では10例中9例90%が+++以上の赤変を示す。これに対し病巣内菌株では+++以上のものは40例中11例27.5%に過ぎず、+++を示すものは僅か1例に過ぎない。なお対照菌株中 H₃₇ Ra は極く痕跡程度に赤変し、M. Phlei は全く変色しない。

対照及び病巣内菌各株の動物実験成績と N-R 呈色度とを比較すると、表7の如く N-R 呈色度+++

表7 肺定量培養成績と N-R 呈色反応

N~R 反応	肺集落数 201	200 101	100 51	50 31	30 21	20 11	10 1	0
+++	5	1						
++	2	4	7	1	1	1		
+	1	1	2	2	3	4	1	
±					2	5	3	2
—						2		3
								1

を示すものは、肺定量培養による発生集落数もすべて101コ以上を示し、両実験法の成績はよく一致し、N-R 呈色度+++のものも16例中13例81.3%が51コ以上の集落発生を示し、ほぼ両実験法の成績が一致するが、N-R 呈色度++のものでは、肺定量培養の発生集落数は201コ以上を示すものから10コ以下

のものまで各段階のものがみられ、両実験法の成績は一致しない。これに対し N-R 呈色度+のものでは12例83.3%, ±のものでは全例において発生集落数も20コ以下であつて両実験法の成績はよく一致する。以上 N-R 呈色反応は+++以上の呈色度の強いもの及び+以下の呈色度の弱いものでは、ほぼ動物実験成績と一致するが、中等度呈色度のものでは必ずしも動物実験成績と一致しない。

Phenolindophenol 還元反応： N-R 呈色反応におけると同様に、対照及び病巣内菌株につき本反応による還元脱色度を見ると、表8の如く対照菌株中

表8 各菌株と Phenol indophenol 還元反応

P-I 反応						
		+++	++	+	±	—
菌株	株数					
H ₃₇ Rv	1	1				
人 F	1	1				
喀 痰 株	10	4	5	1		
H ₃₇ Ra	1	1				
M. phlei	1					1
病巢内株	40	3	19	16	2	

H₃₇ Rv, 人 F 株では全く脱色がみられず、又喀痰分離株は10例中9例90%が+++以上の着色を示し、N-R 法とよく一致した成績がみられ、又非病原抗酸性菌である M. Phlei は完全脱色を示し、これも N-R 法とよく一致した成績を示すが、H₃₇ Ra は本反応では全く脱色が見られず、N-R 法と全く逆の結果を示す。病巣内菌株では、+++以上のものは40例中22例55%に見られ、++及び+の着色度を示すものは40例中35例87.5%と大半を占め±を示すものはなかった。この点 N-R 法と趣を異にする。

N-R 法の場合と同様に、対照及び病巣内菌各株の動物実験成績と P-I 反応とを比較すると、表9の如く P-I 反応+++を示すものは、対照株 H₃₇ Ra を除きすべて肺定量培養発生集落数も51コ以上を示

表9 肺定量培養成績と P-I 還元反応

P-I 反応	肺集落数 201	200 101	100 51	50 31	30 21	20 11	10 1	0
+++	5	1	3					1
++	2	3	5	1	3	7	2	1
+	1	2	1	2	3	4	1	3
±						1	1	
—								1

し、ほぼ両方法は一致した成績を示すが、P-I 反応中大半を占める卍及び卅の着色を示すものは、肺定量培養で発生集落数 201 コ以上から 0 に至るまで各段階の値を示し、両方法の間に一定の関係を認め難い。

尚 Sodium 2,6-dibromobenzenone-indophenol による還元反応は、表10に示す如く P-I 反応とほと

表10 P-I 還元反応と 2,6 D-B-I 還元反応

2.6 D-B-I 反応	P-I 反応					
	卍	卍	卍	+	±	-
卍	9	1				
卍	1	22	1			
卍		1	14			
+			2	2		
±						1
-						

んど一致した成績を示した。

次に病巣内菌株の毒力を動物実験により、術前の化学療法剤の種類、量の多少、虚脱療法の有無、病巣の性状別に検討してみた。

術前治療法と病巣内菌株の毒力： 表11の如く、SM, PAS, INAH 何れも術前の使用量と肺定量培養による発生集落数との間には、一定の関係を認め難い。又虚脱療法施行と肺定量培養による発生集落数との間にも、一定の関係を認め難い。

病巣の種類及び大きさと病巣内菌株の毒力： 表12の如く病巣を空洞、濃縮空洞（術前のレントゲン写真の経過により判定した）、乾酪巣に分ち、その各大きさ別に肺定量培養による発生集落数との関係をみると、濃縮空洞では発生集落数51コ以上のものは見られず、乾酪巣ではすべて20コ以下の集落発生

表11 術前治療法と肺定量培養成績

治療	グラム	肺集落数							
		201	101	51	31	21	11	10	0
SM	～201	1							
	200～101	1	2	2		2	6	1	1
	100～51	1		2	1	3	4	2	2
	51～	1	1		2	1	2	1	1
PAS	～5001	2	2			1	1		1
	5000～2001	1		3		2	6	1	2
	2000～1001			1	2	2	3	2	1
	1000～	1	1		1	1	2	1	
INAH	～51								
	50～21	1				2	5		1
	20～11	1	1	2	1	1	2	1	1
	10～		1	1		1	2	2	
	0	2	1	1	2	2	3	1	2
K. P. P.	～1年	1	1		1	1	1		
	1年～								
	なし	3	2	4	2	5	11	4	3
K. P. T.	～1年			1			3		1
	1年～					1			
	なし	4	3	3	3	5	9	4	3

を見たに過ぎず、その中3例は集落の発生を見ず、濃縮空洞、乾酪巣では明らかに空洞内菌に比し弱毒の傾向がみられるが、各病巣とも大きさによる毒力の強弱は見られない。なお乾酪巣で1cm 以下のもの6例中5例に少数ながらも肺定量培養で集落の発生を見た。

病巣の種類及び内容と病巣内菌株の毒力： 表13の如く空洞は術前の排菌状態により、切除術施行直前迄排菌していたもの、排菌停止（塗沫、培養共に

表 12 病巣の種類、大きさと肺定量培養成績との関係

種類	cm	空 洞					濃 縮 空 洞					乾 酪 巣				
		3	2	1	0.5	0.5	3	2	1	0.5	0.5	3	2	1	0.5	0.5
肺集落数	～201	1	2	1												
	200～101		1	2												
	100～51	1		2	1											
	50～31			1	1			1								
	30～21		1	2				2	1							
	20～11	1	3	1				1				2	1	3		
	10～												2			2
	0		1										2			1

表 13 病巣の種類、性状と肺定量培養成績との関係

種類 性状 肺 落 集 数	空 洞				濃 縮 空 洞					乾 酪 巣				
	~12月	12~6月	6~月	直前	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
~201			1	3										
200~101			2	1										
100~51		1	1	2										
50~31		1	1		1									
30~21	2		1			3								
20~11	3	1	1		1					3	3			
10~												2	2	
0			1									1	2	

陰性) 後切除術迄6カ月以内のもの、6カ月以上12カ月以内のもの、12カ月以上のものに分ち、肺定量培養との関係を見ると、直前迄排菌していた空洞内菌では、全6例とも肺定量培養で51コ以上の集落発生を見、強毒の傾向を示し、排菌停止後6カ月以内のものでは一定の傾向がみられないが、6カ月以上排菌停止のもの、特に12カ月以上排菌停止のものでは、肺定量培養による集落発生数も減じ、弱毒の傾向を示す。濃縮空洞、乾酪巣では第1編におけると同様に、内容の硬度に応じ膿状のものから白亜化に至る迄のものを5段階に分ち(I:膿状、II:乾酪様軟、III:通常の乾酪巣の硬さ、IV:乾酪様硬、

V:白亜化) 肺定量培養との関係を見ると、濃縮空洞では症例が少く一定の傾向が不明であるが、乾酪巣では内容の硬いものでは定量培養発生集落数も減少する傾向が見られ、通常の乾酪巣の硬さ以上の硬度を有する病巣7例中3例では定量培養陰性であるが、残り4例は発生集落数10以下とはいえ定量培養陽性であり、特に乾酪様硬の硬度のものの中2例ではあるが定量培養陽性を示した。

表14は切除直前排菌陽性空洞内菌の諸性状を1表に纏め、対照菌株と比較したものである。

次に病巣内菌の各種化学療法剤に対する耐性度と、毒力判定のための各実験法との成績を比較した。

表 14 切除直前排菌陽性空洞内菌と諸性状

症例	ガキ フリ	大 さ	薬 物	虚療 脱法	N-R	P-I	定量培養発生集落数		
							肺	肝	脾
H ₃₇ R _v					+++	+++	~201	30~21	100~51
1	6(微)	1.5×1.5cm	SM 45 PAS 1300 INH 10	K. P. P.	++	++	100~51	10~	30~21
2	6	2.5×2.5cm	SM 55 PAS 1500	(-)	++	++	100~51	10~	50~31
3	7	1.2×1.5cm	(-)	(-)	+++	+++	~201	100~51	200~101
4	5(微)	3.0×3.0cm	SM 90 PAS 3050	(-)	++	+++	~201	100~51	200~101
5	4	2.5×2.5cm	SM 191 PAS 6600 INH 15	K. P. P.	++	++	200~101	50~31	50~31
6	4	2.0×2.0cm	SM 191 PAS 6600 INH 15	K. P. P.	++	+++	~201	100~51	50~31
H ₃₇ R _a					±	+++	-	-	-
M. phlei					-	-	-	-	-

(微)とは微小集落発生例

病巣内菌株の化学療法剤耐性度と動物実験による毒力との比較：表15の如く SM, PAS では耐性

表15 肺定量培養成績と耐性との関係

薬物	耐性 γ/cc	肺集落数							
		201 }	200 }	100 }	50 }	30 }	20 }	10 }	0
SM	1000	1	1			2	2	1	
	100			1			1	1	
	10	1	1	1	1	1	1		
	1			1	1	1	3	1	1
	0	2	1	1	1	2	5	1	3
PAS	100			1		1	1		
	10					1	1		
	1		1	1		1	1		
	0.1	1	2	1	2	1	3	1	1
	0	3		1	1	2	5	3	3
INAH	100						2		
	10					1	2	1	
	1	1	1	1	1	2			1
	0.1		1	1	1	2		1	
	0	3	1	2	1	1	8	2	3

度と、肺定量培養成績との間に一定の関係が認められない。これに対し INAH では 10 γ 以上の耐性株は 6 例すべて、肺定量培養発生集落数 30 γ 以下であり、100 γ 耐性株では 2 例ではあるが何れも 20 γ 以下であつて、弱毒の傾向を示している。

表16 N-R 呈色反応と耐性との関係

薬物	耐性 γ/cc	N-R					
		+++	++	+	±	-	
SM	1000		1	1	3	2	
	100		2		1		
	10		1	3	2		
	1		2	4	2		
	0	1	4	5	4	2	
PAS	100		1		1	1	
	10		1	1			
	1		1	1	2		
	0.1		2	5	5		
	0	1	5	6	4	3	
INAH	100				1	1	
	10				3	1	
	1		1	3	3		
	0.1		4	1	1		
	0	1	5	9	4	2	

病巣内菌株の化学療法剤耐性度と N-R 反応との比較：表16の如く SM, PAS では耐性度と N-R 呈色度との間に一定の関係をみないが、INAH では動物実験成績と同様に 10 γ 以上の耐性度のもでは N-R 呈色度も + 以下を示し、弱毒の傾向を示す。

病巣内菌株の化学療法剤耐性度と P-I 反応との比較：表17の如く SM, PAS では前二実験と同

表17 P-I 環元反応と耐性との関係

薬物	耐性 γ/cc	P-I					
		+++	++	+	±	-	
SM	1000	1	4	1	1		
	100		2	1			
	10		2	4			
	1		5	3			
	0	2	6	7	1		
PAS	100	1	1	1			
	10		1	1			
	1		3	1			
	0.1	1	8	2	1		
	0	1	6	11	1		
INAH	100		1	1			
	10		2	2			
	1	1	2	4			
	0.1		4	1	1		
	0	2	10	8	1		

じく、耐性度と P-I 着色度との間に一定の関係が見られないが、本反応では前二者と異なり、INAH においても耐性度と P-I 着色度との間に一定の関係がみられない。

次に病巣内菌の培養陽性例、全142病巣中18病巣に8週以後になつてはじめて集落の発生をみたものがあるが、その中の12例につき術前の治療、排菌状態、病巣の性状、毒力などとの関係を検討すると、表18の如く何れとの間にも一定の関係が見られず、ただかかる症例では、病巣内容の培養で得られた集落数が非常に少いことは全例で一致している。即ち生活力は弱いが毒力は必ずしも低下していない。そこでこのことに関連して、動物実験を施行した病巣内菌株40例につき、病巣内容の培養で得られた集落数と肺定量培養による毒力との関係を検討すると、表19の如く病巣内容の培養で 201 γ 以上の集落発生をみた例では、全例肺定量培養でも強毒の傾向を示すが、200 γ 以下の集落発生例では、毒力との間に

表 18 長期培養集落発生例

症例	ガキ フリ	発生 集数	病 性 集 状	薬 物	虚 療 脱 法	N-R	P-I	定量培養発生集落数		
								肺	肝	脾
1	0	2	乾 酪 巢	SM 11 PAS 400	(-)					
2	0	3	空 洞	SM 23 PAS 800	(-)					
3	2	1	乾 酪 巢	SM 50 PAS2000 INH 10	(-)	卅	卅	100~51	10~	50~31
4	2	4	濃縮空洞	SM 50 PAS2000 INH 10	(-)	卅	卅	30~21	10~	20~11
5	0	3	乾 酪 巢	SM 75 PAS3000 INH 7	K. P. P.	+	+			
6	培(+)	1	乾 酪 巢	SM 63 PAS2000 INH 15	K. P. T.	卅	卅	2~11	10~	0
7	0	4	乾 酪 巢	SM 120 PAS5000	(-)	+	卅	10~	0	0
8	4	7	乾 酪 巢	SM 110 PAS4000 INH 35	(-)	±	卅	30~20	20~11	100~51
9	4	6	乾 酪 巢	SM 110 PAS4000 INH 35	(-)	+	卅	20~15	0	10~
10	3	2	空 洞	SM 128 PAS4000 INH 7	(-)	卅	卅	100~51	10~	30~21
11	1	4	空 洞	SM 200 PAS3000 H 20	(-)	卅	卅	~200	10~	100~51
12	0	2	空 洞	SM 100 PAS3000	(-)	+	+	10~	0	10~

表19 病巣内容培養発生集落数と肺定量培養成績

肺養落数	200	100	50	30	20	10	0
病巣培養	201	101	51	31	21	11	1
卅	4	2					
卅		1	2	1	2	4	2
卅				2	3	3	1
+			2		1	5	3

+ : 1~50, 卅 : 51~100, 卅 : 101~200,

卅 : 201~全面

一定の傾向を見出し難い。

次に培養陽性の142病巣中36病巣に、培地一面に微少な所謂S型の集落発生をみたものがあり、術前の治療、排菌状態、病巣の性状、毒力との関係を見たが、表20の如く何れとの間にも一定の関係を認め難い。

最後に病巣内菌株23例につき、毒力とCord形成能との関係を見ると、表21の如くI型の強度のCord形成を示すものは、すべてR型の菌株で占められ、R型集落を示す17例中12例70.6%がI~II型の強いCord形成を示すのに対し、R型集落ではIV型のCord形成をみないものは17例中3例11.1%に過ぎない。これに反しS型集落を示す6例はすべてIV型を示し、Cord形成能と毒力との間には特に一定の関係がみられず、又病巣内容培養時の集落発生期間、発生集落数との間にも一定の関係がみられない。

表 20 微小集落発生例

症例	ガキ フ I	発落 生集数	病性 巣状	薬 物	虚療 脱法	N-R	P-I	定量培養発生集落数		
								肺	肝	脾
1	0	多	乾酪巣	SM 5 PAS 100	(-)					
2	0	多	空洞	SM 150 PAS5000 INH 40	(-)	+	+			
3	0	多	濃縮空洞	SM 60 PAS 600	K. P. T.					
4	2	多	空洞	SM 75 PAS3000 INH 7	K. P. P.	+	+	0	0	0
5	6	多	空洞	SM 45 PAS1300 INH 10	K. P. P.	++	+++	50~31	10~	20~11
6	0	多	乾酪巣	SM 20 PAS5000	K. P. T. K. P. P.	++	+++	20~11	10~	0
7	7	多	空洞	SM 122 PAS4200 INH 20	(-)	+++	+++	20~11	0	0
8	7	多	空洞	SM 122 PAS4200 INH 20	(-)	+	+++	20~11	0	0
9	3	多	空洞	SM 200 PAS8000 INH 20	(-)	++	+++	~200	20~11	50~31
10	5	多	空洞	SM 90 PAS3050	(-)	+++	+++	~200	100~51	200~101
11	0	多	乾酪巣	SM 110 PAS5300 INH 42	(-)	+	++	0	0	0
12	1	多	乾酪巣	SM 80 PAS2000	(-)					

表21 Cord 形成能と諸性状

症 例	Cord 型	集 落 性 状	集 期 間 過 生	発 集 落 生 数	肺 集 定 培 落	N-R	P-I
1	I	R	5	多		++	++
2	I	R	7	多	34	+++	+++
3	I	R	5	多		++	+++
4	I	R	13	3	45	++	+++
5	I	R	6	2	0	+	++
6	I	R	4	4	14	±	+
7	I	R	4	多	17	+	+++
8	I	R	13	1	87	±	++
9	I	R	13	3	15	+	+++
10	II	R	4	多	97	+++	+++
11	II	R	4	多	20	++	+++
12	II	R	5	多		+	++
13	III	R	6	多	34	+	++
14	III	R	4	多	76	+++	+++
15	IV	R	5	多	14	+++	++
16	IV	R	13	1	35	+++	+++
17	IV	R	13	1	27	++	++

18	IV	S	8	多	14	+	+
19	IV	S	6	多	0	+	+
20	IV	S	3	多	21	+++	+++
21	IV	S	3	多	15	+	+++
22	IV	S	13	多	54	++	++
23	IV	S	11	多	~201	+++	+++

総括及び考案

およそ病原微生物の毒力という問題を考える場合、
 諸種の要素が介入するため、この言葉の持つ意味は
 複雑であるが、結核菌の場合、Rich⁷⁾ は結核症に
 おける感染の成立、即ち結核結節形成の有無は感染
 菌の増殖により菌体が組織内に蓄積されるか否かに
 かかっているということなどの理由から、感染菌の
 組織内における増殖力こそが、結核菌における感染
 現象を全経過にわたって支配する最も重要な属性で
 あり、少数菌が導入された場合でも、病変を惹起す
 るに十分な菌数にまで増殖する能力を持つか否かと

いうことが、病原性を決定する因子であると考え、ある結核菌菌株の毒力とは、感受性宿主の組織内で生存し増殖して真く能力そのものであると定義している。種々の動物に結核菌を接種した場合の生存日数、臓器病変、臓器内結核菌の消長を追求し、結核菌の毒力を測定しようとする試みは、1928年 Lurie⁸⁾の家兎を用いての実験にはじまり、その後数々の報告⁵⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾があるが、1953年 Pierce, Dubos⁶⁾らは系統的な実験により、一定した毒力を有する結核菌株のマウスに対する病原性と肺、脾、肝における増殖能力とが、よく一致することを報告し、又モルモットに対する有毒株はマウスに対しても少量の感染菌量で充分進行性の病変を惹起し、毒力の低下した菌株でも有毒株では肺における生菌数は最初脾に比し少ないが、その後次第に増加し、観察の期間中増加してゆくことを述べ、小川⁵⁾らもマウスの静脈内接種では、モルモットの皮下接種に比し臓器中の菌数は動物間の差が少く、この傾向は感染後6週間後までは殊に著明であつて、このことは実験成績を確実にするものであり、従つて毒力の検査には従来以上の正確な数字を示すのではなからうかと述べている。この意味において本実験でも病巣内菌の毒力判定にマウス尾静脈接種法を用いた。即ち小川⁵⁾らの報告及び諸家の報告⁶⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾を参照し、各動物間の臓器中菌数の差を少くし、又菌接種直後の変動をさけるため、5週後の臓器定量培養成績をもつて毒力判定の代表とし、併せて動物の生存日数、体重増減を観察した。又結核菌の毒力判定法としては、このほかに数種類¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾¹⁹⁾のものが試みられているが、この中方法も簡単であり、原著の成績も良く追試も多い Dubos²⁾³⁾らによる Neutralred 呈色反応と、Wilson, Patnode²⁰⁾²¹⁾²²⁾らによる Phenol-indophenol 還元反応を選び、これに Cord 形成能を加え動物実験と比較検討した。なお Dubos²³⁾も述べている如く、病原微生物の毒力を検討する場合、宿主寄生体の相互関係に即して考えるべきは当然であつて、この点は Bloch²⁴⁾も強調している。かかる意味から本実験でも接種菌株の培養条件、接種菌量、接種方法、感染動物の系統、性、体重、飼育条件など、実験条件の一定化に留意した。この点は色素反応でも同様であつて、豊原²⁵⁾の報告でも諸種呈色反応が条件の相異により如何に影響されるかを検討し、特に菌側の培養条件により呈色度に相当の差の生ずることを述べている。従つて本実験でもこの点考慮を払つた。以下文献的考察を加

えつつ実験成績の検討を試みる。

先づ第1編でも述べた如く、切除肺病巣中には塗沫陽性培養陰性例が意外に多いところから、これらの通常の培養法で陰性を示す菌の生死判別のために、培養法改善の努力と共に動物実験を行つている実験は可成みられるが、病巣内菌株中培養陽性例についてその毒力を系統的に検べたものは極めて少く、僅かに北尾²⁶⁾が病巣内結核菌の検索に際し、生死判定のため培養と並行してモルモットによる臓器定量培養を行つているに過ぎないが、詳細な検討は行っていない。

今回の実験成績中、対照菌株の H₃₇Rv, 人F, H₃₇Ra, M. Phlei のマウス接種成績は、生存日数、体重減少、各臓器定量培養成績何れも上記諸家の報告と大体一致しており、H₃₇Rv, 人F株は強い毒力を示したが、これに反し H₃₇Ra, M. Phlei は全く毒力を示さなかつた。喀痰分離株は人F株とほぼ同様かやや弱毒の傾向を示し、これも上記諸家の報告とほぼ一致している。次に病巣内菌株は40株中、H₃₇Rv, 人F株と同等の毒力を示したものは、切除術施行前迄排菌していた僅か4例の空洞内菌のみで他は毒力の弱化を示し、概して毒力の弱化している傾向がみられた。病巣の種類別では、空洞よりも濃縮空洞や乾酪巣よりの分離株の方が毒力が減弱しており、北尾²⁶⁾の成績と一致する。然し各種病巣とも病巣の大きさによつて毒力の差はみられない。空洞では切除術直前迄排菌していた病巣内菌は何れも強毒の傾向を示すが、術前排菌停止期間の長い病巣内菌程弱毒の傾向を示し、この傾向は術前1年以上排菌していない病巣内菌で特にはつきりしている。このことは濃縮空洞では症例が少く、はつきりしないが、乾酪巣では内容の硬化するにつれ弱毒化する傾向がみられる。この点に関連して病巣内菌の塗沫陽性、培養及び動物接種陰性例につき、今一度考えてみると、閉鎖被包され且つ融解性でなくなつた病巣で、培養及び動物接種陰性のものが増加することは、第1編でも述べた如く諸家の一致した見解であり、かかる菌の生死に関しては、種々議論のあるところであり、Steenken²⁷⁾らは死滅しているといい、Hobby, Auerbach²⁸⁾らは死滅したのではなく、従来の方法で発育しない様な又毒力を現わさない様な、latent 又は dormant な状態にあるのだとの見解をとり、かかる状態の結核菌は何らかの方法で再生できそうだとし²⁹⁾、1954³⁰⁾年0.5% Albunin 加 Dubos 培地を材料の稀釈洗滌に用い、0.02%に Tween 80

を加えた Dubos 培地に培養して8～9カ月の長期にわたって観察した結果、31病巣中25病巣から結核菌を見出し、その中9例は9～12週以上の長期培養によつてはじめて陽性となり、これらの菌はすべてモルモットに毒性を示したことを述べ、牛場³¹⁾も追試により同様の結果を得ているが、Steeken²⁷⁾は培養技術の改良によつても培養陽性率を高めることは出来なかつたとし、又被包された病巣では結核菌の物質代謝に変化が起り、その主たるものは酸素の減少²⁹⁾、³²⁾、³³⁾、炎症性細胞の嫌気性物質代謝の結果生ずる乳酸³⁴⁾、その他 C₁₀、C₁₂、C₁₄、C₁₆ らの脂肪酸で、これらが結核菌に静菌的又は殺菌に作用するといわれているのであるが²⁹⁾、³²⁾、³³⁾、以上被包化され、内容が融解性でなくなつた病巣に多くみられる。塗沫陽性、培養陰性例に関する諸家の見解と、本実験で得られた培養陽性例中でも閉鎖、被包され内容の硬化した病巣内菌程弱毒の傾向を示す成績とを比較すると興味深い。なお乾酪巣中径 0.5 cm 以下、内容が乾酪性硬のもの2例において弱毒とはいえ定量培養陽性例のみられたことは、症例が少いためこれにより全体を推量することは勿論不可能であるが、注目すべきことである。結核菌の毒力を考える場合、終局的には感受性動物体内での増殖力で表わすことが出来るが、先にも述べた如く Dubos²⁹⁾ の唱える様に、病原微生物の毒力を検討する場合、単に寄生体のみでなく、寄生体宿主間の複雑な総和として考えるべきは当然であつて、岡・菅原³⁵⁾ は従来の報告を集計して、肺内石灰化巣より約14%、石灰化リンパ腺中よりは約18%に生菌を検出していることになると述べており、Könnner³⁶⁾ は石灰化巣の周囲に滲出性のシューブ又は空洞化のみられた62例を報告し、Dermott³⁷⁾ も長年月を経過した再燃について述べ、菌が長く生きながらえて再び増殖する可能性を信じているが、かかる事実は日常しばしば遭遇するところであつて、かかる弱毒化した結核菌が後日寄生体宿主間に存在する複雑な因子の何らかの関係で、再び毒力を回復しないと断言し得ない。又菅原³⁵⁾ は結核に感染したモルモットを INAH で治療した場合、結核性病変のある臓器から結核菌が従来の培養法で検出できないのに、治療を中止するとモルモットにおいて再発をみることを報告しており、かく考える時塗沫陽性、培養陰性例も一概に菌が死滅していると断言するには問題がある様に考えられる。

次に術前に用いた化学療法剤の種類、量と病巣内

結核菌の毒力との間には一定の関係がみられず、又虚脱療法施行の有無も直接毒力の変化には関係しない。このことは先の北尾²⁶⁾ の成績でも同様であつて、結局第1編でも述べた如く、化学療法、虚脱療法が病巣の被包化を促進することが、間接的に培養陰性例を増加するのと同様、化学療法、虚脱療法による病巣の閉鎖被包化の促進が二次的に病巣内菌の毒力減弱に関与しているものと考えられる。次に病巣内菌の耐性度と毒力との関係は、SM、PAS については、喀痰中の菌についての諸家の報告と同様であつて、耐性獲得の程度と毒力の強弱との間には一定の関係がみられない。このことは北尾²⁶⁾ の成績でも同様である。INAH については、Mitchison³⁸⁾ が INAH に対する結核菌の耐性獲得度と毒力との間に一定の関係のあることを最初に主張し、実験動物、殊にモルモットに対して INAH 高度耐性菌の毒力が減弱していることは一般の常識であるが、マウスに対しては、Mitchison³⁹⁾ はモルモットと同様に、INAH 耐性菌は耐性度に比例して毒力の弱くなる成績を得ているが、これに対し Steenken⁴⁰⁾、Bloch⁴¹⁾、Stewart⁴²⁾ らは、耐性度と毒力の間に明らかな関係がないと反ばくしている。その後の追試によれば、Mitchison の成績の如き明白な相関はないが、耐性度の高いものに毒力の著明に低下した菌が多いことが認められ⁴³⁾、このことは臨床上治療の問題とも関連して重要な問題となつていゝるが、本実験では 10 % 以上の耐性菌では、マウスに対する毒力も減弱している成績を得た。しかしながらかかる実験動物で弱毒化を示す耐性菌が、果して人体に対しても弱毒であるか、又人体への感染能力が如何であるかなどの問題は、今後なお検討されるべき問題であると考えられる。

次に病巣内菌中、培養8週以後になつてはじめて集落の発生をみた症例が12.7%にみられたが、このことに関しては、先に述べた Hobby³⁰⁾、牛場³¹⁾ の報告があり、Hobby はかかる長期培養で陽性となつた菌はすべてモルモットに対して有毒であり、又術前の化学療法実施期間の長短と菌陽性との間には、何ら一定の関係がなかつたと述べている。本実験の成績でもこれと同様なことがいえるのであるが、ただ長期培養で得られた発生集落は、全例とも僅少であつて、毒力は有するが生活力は低下しているといえるようであり、この点と関連して病巣内菌培養陽性例の発生集落数と毒力との関係をみると、発生集落数の極めて多いものでは毒力も強く、生活力と毒

力とが平行関係を示すが、その他のものでは発生集落数と毒力とは必ずしも平行しない、即ち生活力と毒力とが必ずしも平行しないものがみられる。結核菌におけるかかる現象は、小川⁴⁴⁾も述べており、先に述べた閉鎖被包され内容が硬くなるにつれて、病巣内菌の毒力が減弱してくる成績も含めて病巣内菌の多くが、通常の喀痰中における塗抹培養何れも陽性の結核菌に比し、可成の生物学的、細菌学的性状の変化をきたしていることは、想像に難くない。

次に病巣内菌中微少な、所謂S型集落発生をきたした症例が23.3%にみられたのであるが、一般に病原微生物の毒力の研究を進めてゆく場合、これら微生物のほとんどすべてが、ある条件のもとで無毒の変異株を生じ得ることが観察されており、特にGram陰性桿菌や肺炎双球菌においては、S型-R型への集落解離と抗原構造及び毒力の変化は互に関連するし、均一な細菌株によつて構成されていると考えられていた多くの培養が、実はS型、R型の混合であつて、この培養菌が感受性宿主に対して発揮する病原性の程度は、Population中に存在するS型、R型変異菌の相対的な割合によつて決定されることも明らかにされているが⁴⁸⁾⁴⁹⁾、結核菌の場合Petroff⁴⁶⁾⁴⁷⁾、Petroff & Steenken⁴⁸⁾⁴⁹⁾が牛型菌や鳥型菌につき、S型、R型の解離現象を認め、それに伴う毒力の変異も述べたが、その後この集落解離と毒力変異との関係は漸次否定されるに至り、Steenkenもその後結核菌ではS型、R型と毒力変化との間には並行的な関係のないことを認めている⁵⁰⁾。本実験でもS型集落発生例で、特に毒力が低下しているとはいえず、又術前の排菌状態、治療法の種類、病巣の性状とも一定の関係がない。次にMiddlebrook及びDubos⁵¹⁾らは、有毒株が形態的にはCordと呼ばれるものを培養液中で形成し、このCordを作る菌株に毒力の高いものが多いことを発表し、Yegian⁵²⁾、阿武⁵³⁾、今村・梅田⁵⁴⁾も同様のことを認めているが、藤田⁴⁾はCord形成の出現は主として、その集落がR型かS型であるかによつて左右され、R型に主として出現し、しかもその程度は人型並びに牛型結核菌の如く毒力菌の方が比較的より定型的であると報告しており、現在Cord形成能と毒力に関する決定的な結論は得られていないのであるが、本実験では藤田とはほぼ同様の結果を得、R型集落では70.6%が強いCord形成を示すのに対し、S型集落では全例Cord形成がみられず、

Cord形成能と毒力との間には一定の関係がみられなかつた。

次に色素による毒力判定法中、Neutralred呈色反応は最初Dubos²¹⁾²³⁾により試みられ、22株の人型、牛型結核菌の実験で、無毒株は黄色に染まるに過ぎず、これに対し有毒株は赤染することを認め、この反応により有毒株と無毒株を区別することができることを示したが、その後の追試により賛否両論あり、今村・堀・小川⁵⁵⁾⁵⁶⁾及び豊原²⁵⁾は菌の毒力とは無関係であると述べ、高木・松尾⁵⁷⁾は肺結核患者からの新分離結核菌16株、保存の人型、牛型病原性株ではほとんど強陽性を示し、その他の非病原性抗酸性菌及び各種非抗酸性菌では、ほとんど陰性であり、実施も容易であり良い方法だと述べているが、本実験での成績では、H₃₇ Rv、人F株及び患者喀痰よりの分離株では、動物実験とN-R呈色反応とはほぼ一致し、病巣内菌株では、N-R呈色度の極めて強いもの及び極めて弱いものは、動物実験による毒力の程度とよく一致するが、中等度の呈色度のもものでは動物実験成績と必ずしも一致しなかつた。従つて本反応は結核菌毒力の大まかな判定には充分用いるが、精密な判定には応用し難いものと考えられる。なお豊原²⁵⁾は本反応により、患者喀痰より分離した結核菌の抗結核剤耐性度と毒力との関係を検討し、SM 100 γ 以上の耐性菌は、感性菌及び10 γ 以下の低度耐性菌に比し、本反応の呈色度が低下し、INAH及びPAS耐性菌は耐性度による呈色度の差を認めないことを報告しているが、本実験ではSM高度耐性菌についても、特に感性菌に比し呈色度が弱い結果は得られなかつた。又P-I還元反応は、最初のWilson et alの報告によれば、271株の抗酸性菌につき調べたところでは、動物に対する毒力とよく一致すると述べられ、その後Patnodeらによつて760株のMycobacteriaにつき追加検討され、先づ327のWild株は完全に色素を脱色して無毒の成績を示し、433株の保存株中、色素を脱色せず有毒の結果を得たものは305株に達し、この中299株(98.1%)がモルモット体内で進行性の結核病変を惹起したと報告しているが、この反応で特異な点は、H₃₇ Ra及びB.C.G.株が毒力株として反応する点で、Haudroy⁵⁸⁾、松尾⁵⁷⁾も原著と同様の成績を得、本実験でもH₃₇ Raにおいて同様の成績を得たが、松尾は過去に毒力を持つていたことを思わせるものとして考えれば興味深いと述べている。又松尾の成績によると、保存人型菌及

び喀痰よりの分離株では軽度で脱色されたものもあるが、脱色されないものが大部分であり、本実験成績でも、*M. Phlei* が安全脱色する他は、喀痰分離株もほとんど脱色しないか軽度で脱色する程度であり、病巣内分離株、動物実験で発生集落の極めて少い2例に可成の脱色を認めた他は、動物実験による毒力の強弱にかかわらず本反応では著しい脱色がみられなかつた。従つて成程有毒株では、P-I 反応も有毒の結果を示すが、人体感染菌の毒力の程度判定には、大なる意義を有しないものと考えられる。

結 語

切除肺各種病巣内結核菌の中、培養陽性40例につき、マウス尾静脈接種法による臓器定量培養により毒力を検討し、併せて色素反応及び Cord 形成能との関係を考察し次の結果を得た。

1) 切除肺病巣内結核菌は、H₃₇ Rv、人F及び喀痰内分離結核菌に比し、概して弱毒の傾向がみられた。

2) しかし手術直前迄排菌していた空洞内の結核菌は、ほとんど喀痰内分離結核菌と同等の毒力を示し、排菌停止後の期間が長くなるにつれて、毒力の減退する傾向がみられる。乾酪巣では、空洞内菌に比し毒力の減弱している傾向がみられ、内容の硬いもの程、その中の結核菌の毒力も弱い。

3) 各病巣内結核菌とも、その毒力と病巣の大きさ、術前の化学療法の種類、量、虚脱療法の有無との間には一定の関係が認められない。

4) 色素反応の中、N-R 呈色反応は、呈色度の極めて強いもの及び弱いものでは、動物実験による毒力の程度とよく一致するが、中等度の呈色度のものでは動物実験成績と必ずしも一致せず、本反応は結核菌毒力の大まかな判定には充分用いるが、精密な判定には応用し難いものと考えられる。又 P-I 還元反応は成程有毒株には、有毒の結果がみられるが、人体感染菌の毒力の程度判定の際には動物実験による毒力の強弱にかかわりなく、本反応では著しい脱色がみられず、大なる意義を有しないものと考えられる。

5) SM, PAS 耐性度とマウスに対する毒力は、一定の関係が認められなかつたが、INAH 耐性株では、10⁷ 以上の耐性獲得のもので毒力の減弱している傾向がみられた。このことは N-R 反応でも同様の傾向がみられたが、P-I 還元反応ではこの関係は明らかでなく、又 SM 高度耐性株における N-R 反応の呈色度の低下は認められなかつた。

6) 微少集落発生例を23.3%に認めたが、かかる症例において特に毒力の低下は認められず、又術前の排菌状態、治療法、病巣の性状とも一定の関係がなく、むしろ Cord 形成能との関係が認められ、かかる微小集落、即ち S 型の集落を呈するものでは、Cord 形成がみられず、R 型の集落を呈するもので強い Cord 形成が認められ、Cord 形成能と毒力との間には一定の関係が認められなかつた。

7) 8 週以上の長期培養で集落の発生をみた症例が12.7%にみられたが、集落数は全例とも僅少で生活力の低下は考えられるが、毒力は必ずしも低下しておらず、又病巣内菌中、手術直前迄排菌していた空洞内菌の一部を除き、他の多くのものは、毒力と生活力とが必ずしも一致せず、病巣の被包、硬化につれて毒力の減弱してくることと考え合せて、病巣内結核菌の多くが、通常の患者喀痰中にみられる結核菌に比し、可成の生物学的、細菌学的性状の変化をきたしていることは想像に難くない。なお乾酪巣中径 0.5 cm 以下、内容が乾酪性硬のもの2例において弱毒とはいえ定量培養陽性例がみられたが、かかる性状の結核菌が再び毒力を回復しえないとは断言しえないところであり、又かく考える時、塗沫陽性、培養陰性例も一概に菌が死滅していると断言するには問題がある様に思われる。

御協力いただいた研究検査室広中孝作はじめ諸氏に感謝する。

本論文の要旨は日本結核病学会中国四国地方会第8会総会において発表した。

文 献

- 1) Medlar, E. M., Bernstein, S., and Steward, D. M. : Am. Rev. Tuberc., 66; 36~43, 1952.
- 2) Dubos, R. : Am. Rev. Tuberc., 58~6, 698~699, 1948.

- 3) Dubos, R. : Am. Rev. Tuberc., 60~3; 384, 1949.
- 4) 藤田・結核, 27; 8, 409~413, 昭27.
- 5) 小川・結核, 25; 12, 647~655, 昭25.

- 6) Pierce et al. : J. Exp. Med., 97; 189~206, 1953.
- 7) Rich, A.R. : The Pathogenesis of Tuberculosis, C. C. Thomas, Springfield, Ill., 1950.
- 8) Lurie, M. B. : J. Exp. Med., 48; 155, 1928.
- 9) Wessels, C. C. : Am. Rev. Tuberc., 43; 459, 1941.
- 10) Fenner, F. : Am. Rev. Tuberc., 64; 353, 1951.
- 11) Fenner, F. et al. : Ann. New York Acad. Sci., 52; 751, 1949.
- 12) Fenner, F. et al. : Am. Rev. Tuberc., 68, 321, 342, 1953.
- 13) 水之江 : 日本細菌学雑誌, 7, 195, 1952.
- 14) 榎藤 : 結核, 30; 増刊号, 90, 昭30.
- 15) Bloch, H. : J. Exp. Med., 91; 197, 1950.
- 16) Bloch, H. : Am. Rev. Tuberc., 61; 270, 1950.
- 17) Lehmann : Lancet, 1; , 14 & 15, 1946.
- 18) Moore : Am. J. Path., 18; 827, 1942.
- 19) Emmart & Smith : Am. Rev. Tuberc., 47; 426, 1943.
- 20) Wilson, F. J. et al. : Am. Rev. Tuberc., 65; 187, 1952.
- 21) Patnode, R. A. et al. : Am. Rev. Tuberc., 66; 99, 1952.
- 22) Patnode, R. A. et al. : Am. Rev. Tuberc., 69; 599, 1954.
- 23) Dubos, R. J. : The Bacterial cell, Harvard University Press, Cambridge, Mass., 1945.
- 24) Bloch, H. : Acid fast bacteria, Ann. Rev. Microbiol., 19; 1953.
- 25) 豊原 : 結核, 32; 7, 352~355, 昭32.
- 26) 北尾 : 結核診療, 8; 3, 163~179, 昭30.
- 27) Steenken, W. et al. : Am. Rev. Tuberc., 80; 370, 1954.
- 28) Hobby, et al. : Am. Rev. Tuberc., 70; 191, 1954.
- 29) Report of panel discussion on the survival and revivral of tubercle bacilli in healed tuberculous lesions : Am. Rev. Tuberc. 68; 477, 1953.
- 30) Hobby, G. L. et al. : Am. Rev. Tuberc., 70; 191~218, 1954.
- 31) 牛場 : 診療, 8; 879, 1955.
- 32) Dubos, R. J. : Am. Rev. Tuberc., 65; 637, 1952.
- 33) Dubos, R. J. : Am. Rev. Tuberc., 67; 874, 1953.
- 34) Dubos, R. J. : J. Exp. Med., 97; 357, 1953.
- 35) 岡, 菅原 : 結核診療, 8; 3, 127, 昭30.
- 36) Könnner : Tbk-Arzt, 7; 584, 1953.
- 37) Dermott, Med. Rev. Tuberc., 68; 477, 1953.
- 38) Mitchison, D. A. : Brit. Med. J. : 1; 128, 1954.
- 39) Mitchison, D. A. : Davies and Gale : Adaptation in miroorganisms, 253, Cambridge, 1953.
- 40) Steenken, W. et al. : Am. Rev. Tuberc, 68; 548, 1953.
- 41) Bloch, H. et al. : Am. Rev. Tuberc, 68; 734, 1953.
- 42) Stewart, S. M. : Am. Rev. Tuberc, 69; 641, 1954.
- 43) Kazlonski, J. P. et al. : Am. Rev. Tuberc, 73; 266, 1956.
- 44) 小川 : 結核菌検索の基礎と応用, 107, 昭28.
- 45) Braun, W : Bacterial Genetics, W. B. Saunders, Phil., 1953.
- 46) Petroff, S. A. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 24; 632, 1927.
- 47) Petroff, S. A. : Proe. Soc. Exp. Biol. Med. 24; 956, 1927.
- 48) Petroff, S. A. et al. : J. Exp. Med., 51; 831, 1930.
- 49) Petroff, S. A. et al. : J. Exp. Med., 60; 515, 1934.
- 50) Steenken, W. Jv. : Amer. Rev. Tuberc, 62; 22, 1950.
- 51) Middlebrook, G. et al. : J. Exp. Med., 86; 175, 1947.
- 52) Yegian : Am. Rev. Tuberc., 65; 181, 1952.
- 53) 阿武 : 結核, 24; 4, 105, 昭24.
- 54) 今村, 梅田 : 文部省科学研究費結核班細菌科会報告, 昭27.
- 55) 今村, 堀 : 結核, 27; 9, 531, 昭27.
- 56) 今村, 小川 : 結核研究委員会細菌科会報告, 昭26~27.
- 57) 高木, 松尾 : 結核, 30, 増刊号, 93, 昭30.
- 58) Hauduroy, P. et al. : Ann. Inst. Pasteur, 77; 91, 1949.

Studies on Physiological and Bacteriological Traits of Tubercle Bacilli in the Excised Pulmonary Focus

Part 2. The virulency of tubercle bacilli in the excised pulmonary focus

By

Hiroshi Ikeda

1st Department of Internal Medicine Okayama University Medical School
(Director: Prof. Kiyowo Kosaka)

Iwakuni National Hospital (Vice-Director: Dr. S. Iwahara)

By inoculating into the tail vein of mice 40 samples of culture positive bacilli obtained from different kinds of the excised pulmonary foci and by the estimation culture of the viscera of these test animals, the author studied the virulency of the tubercle bacilli, and also carried out observations on the relationship between the color reaction and the ability of cord formation.

1. Tubercle bacilli in the excised pulmonary focus generally tend to show a less potent virulency than that of H₃₇Rv, human F strain, and ones isolated from human sputum.

2. However, the tubercle bacilli from the cavity expelling bacilli up to the time of operation show the virulency almost as potent as the tubercle bacilli isolated from sputum. The longer the time after the cessation of bacillus expulsion the weaker the virulency tends to be. In the caseous focus the virulency of bacilli tends to be less potent than in the case of the cavity. In addition, the softer the contents of the focus the weaker is the bacilli.

3. Tubercle bacilli in all kinds of foci show no fixed relationship between the virulency on one hand and the size of focus, the kind and amount of drug administered before operation, and collapse therapy or no collapse therapy on the other hand.

4. Of various stainings, neutral red reaction in the case of extremely strong or extremely weak stain coincides well with the degree of virulency in the animal experiment, but in the case staining in an intermediate degree, although coinciding well with the potency of virulency, it does not necessarily agree with the results of animal experiment. It seems that this method is fairly useful for a rough estimation of the virulency of tubercle bacilli but it is not adequate enough for a precise analysis. Furthermore, P-K reduction test will yield the degree of virulency to a certain extent for the virulent strain, but for the determination of the degree of virulency in human infected bacilli, irrespective of the potency observed in animal experiment, no marked discoloration can be observed by this test and it seems to possess no great significance.

5. No fixed relationship between the resistance against SM and PAS and the virulency toward mice, but in the case of INAH-resistant strain that acquired the resistance of over 107, a weakening tendency can be recognized in their virulency. Such a tendency has also been observed in the N-R reduction test. In addition, no decrease in the coloration can be recognized by the N-R reaction in SM-highly-resistant strain.

6. The cases showing the colony formation even after a long period of culture carried over 8 weeks amount to 12.7 per cent, but the number of colonies is small in all cases, suggesting a fall in the power of subsistence. However, the virulency is not necessarily diminished. Judging from the fact that with an exception of the bacilli in the cavity expelling bacilli up to the operation, the potency of the virulency and the power of subsistence in the majority of bacilli do not coincide with one another and that the virulency grows less potent along with the encapsulation and hardening of the foci, it is not difficult to under-

stand that most of tubercle bacilli found in foci undergo physiological and bacteriological changes to a great extent than those tubercle bacilli usually found in the sputum of patient. Furthermore, in two caseous foci whose diameter is under 0.5 cm and whose contents are caseously hardened, the bacilli, though weak in virulency, have been found to be positive to the estimation culture. It is not reasonably impossible to say that such characteristic trait of tubercle bacilli may recover the virulency, and from such a reasoning there remains a problem to be solved before deciding definitively that the bacilli proving to be smear-positive and culture-negative are all dead.
