

等は上述の様に培養液を比較的高濃度に含む平板に本菌株浮遊液を塗抹して、生じた比較的少数の集落を釣菌し、その抗菌力を検討し Active strain の選別に成功した。

更に此方法を継続する事によつて、より強力な菌株を選別し得るか否かについては目下検討中である。

### 考 按

上述の実験成績により少く共、Streptomyces と Nocardia に於ては自己発育阻止現象の存する事が明かとなつた。

その機構については (i) Streptomyces に於ては細菌に対し抗菌作用を有する株の多くは自己発育阻止作用を呈し、細菌に対し抗菌作用のない株はその様な作用のない点から、作用の本態は当該菌株の産生する抗菌物質ではなからうかと推測せられる。

次で Nocardia A. 422 株を用ひて更に詳細に吟味した結果 (ii) 培地 PH の上昇と共に阻止帯が長くなる点は、本抗菌物質が塩基性であつて検定用培地の PH の上昇と共に抗菌價の上昇する点と一致して居る。<sup>(1)</sup> 更に本抗菌物質を含有する平板に於て、抗菌物質の濃度が上昇すると共に本菌株の発育の阻害される点から自己発育阻止現象は当該菌株の産生する抗菌物質によると考へる以外に途はない。

次に黒屋氏等の相互阻止作用を應用して抗菌性放線状菌の同定を行ふ方法については、著者等の実験成績も大抵氏等の夫に一致して居るが、中には自己阻止帯が他株に対する夫と同長或は却つて長い場合もあり得る事も念頭に置かねばならぬ。

### 文 献

- 1) 上坂 結研年報, 第1号, 163頁, 昭和24年度
- 2) 泰等 第23回日本細菌学会演説, 昭和25年
- 3) Waksman et al., J. Bact., 52 : 393, 1946
- 4) 黒屋等 第23回日本細菌学会演説, 昭和25年

## 化学療法剤 (抗生物質) の結核菌に対する作用の Screening test としての試験管内試験法の再検討 (第1報)

上 坂 一 郎

結核に掲載予定

化学療法剤 (抗生物質) の効果判定には (1) 試験管内試験、(2) 実験動物に対する効果判定、(3) 人体試験の順で行はれるのが普通である。処が実際に当つて見ると第1の段階である試験管内試験法の成績にはあまり信を置けないのが実情の様である (長谷川、Youmans、Feldman & Hinshaw)。<sup>(1)</sup><sup>(2)</sup><sup>(3)</sup>

乍併、in vitro で無効であつて in vivo では有効であるとか、或はその逆の結果を得る事のあるのは、勝がち結核菌の場合に限らない。スルフォンアミド類は生体内では病原性球菌に対し卓効を奏するのに普通ブイオンを用ひた in vitro 試験法では抗菌作用を示し難い。言ふ迄もなく普通ブイオンには所謂 Inhibitor が含まれて居るからである。

そこで私はこの in vitro 試験法の價值と限界について今一度再吟味して見たいと思ふ。

先づ上記、効果判定の3段階について考へて見よう。此の様に順々に篩にかけて無効のものを落し

て行くのであるから、先づ第1の篩 (in vitro 試験法) で有効と認められたものの中には、第2、第3の篩にかゝる時、無効と判明するものがあるのは当然である。(もし第1の篩で有効のものが必ず第2、第3の篩でも同様に有効でなければならぬとするならば、どうして第2、第3の篩を必要としやうか。) 寧ろ、第1の篩をかける時、注意すべきは篩ひ落されたものの中に真に有効なもの混入しない様にする事である。(スルホンアミドのブイヨンに於る如き例)。

従来一般に in vitro 試験法の原則として出来るだけ in vivo の状態に近い方がよいと言はれて来た。併し實際上 in vitro でどれだけ in vivo の状態を再現できるであらうか。

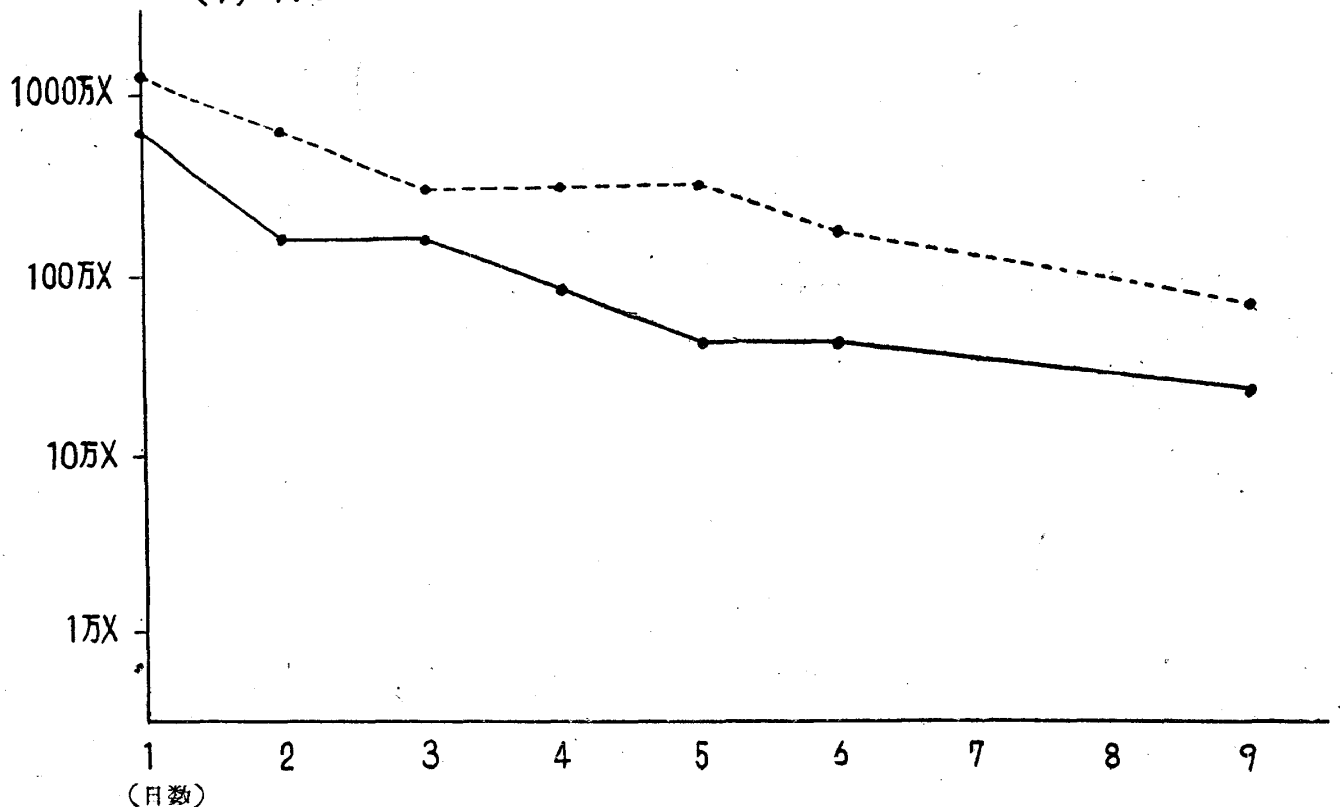
S. C. C. 法が賞用せられる。S. C. C. 法がどれだけ生体内の状態を再現して居るであらうか。乾燥した血液は生体の何を現はして居るか。のみならず血液の様な複雑な組成の培地を用ひる時には、その中の予期しない inhibitor により真に卓効ある (病原球菌に対するスルホンアミド程度の) 薬剤を見逃す虞が多分にある。

そこで私が in vitro 検査法に期待する原則は自ら明かとなる。即ち in vitro 検査法は飽くまで第一次の Screening test である。最初の篩である。ここで篩ひ落されるものは真に無効なもののみでなければならぬ。換言すれば薬剤の抗菌力を阻害する様な要因を出来るだけ避けねばならない。此の見地から薬剤の抗菌力に影響を與へる要因として次のものが挙げられやう。

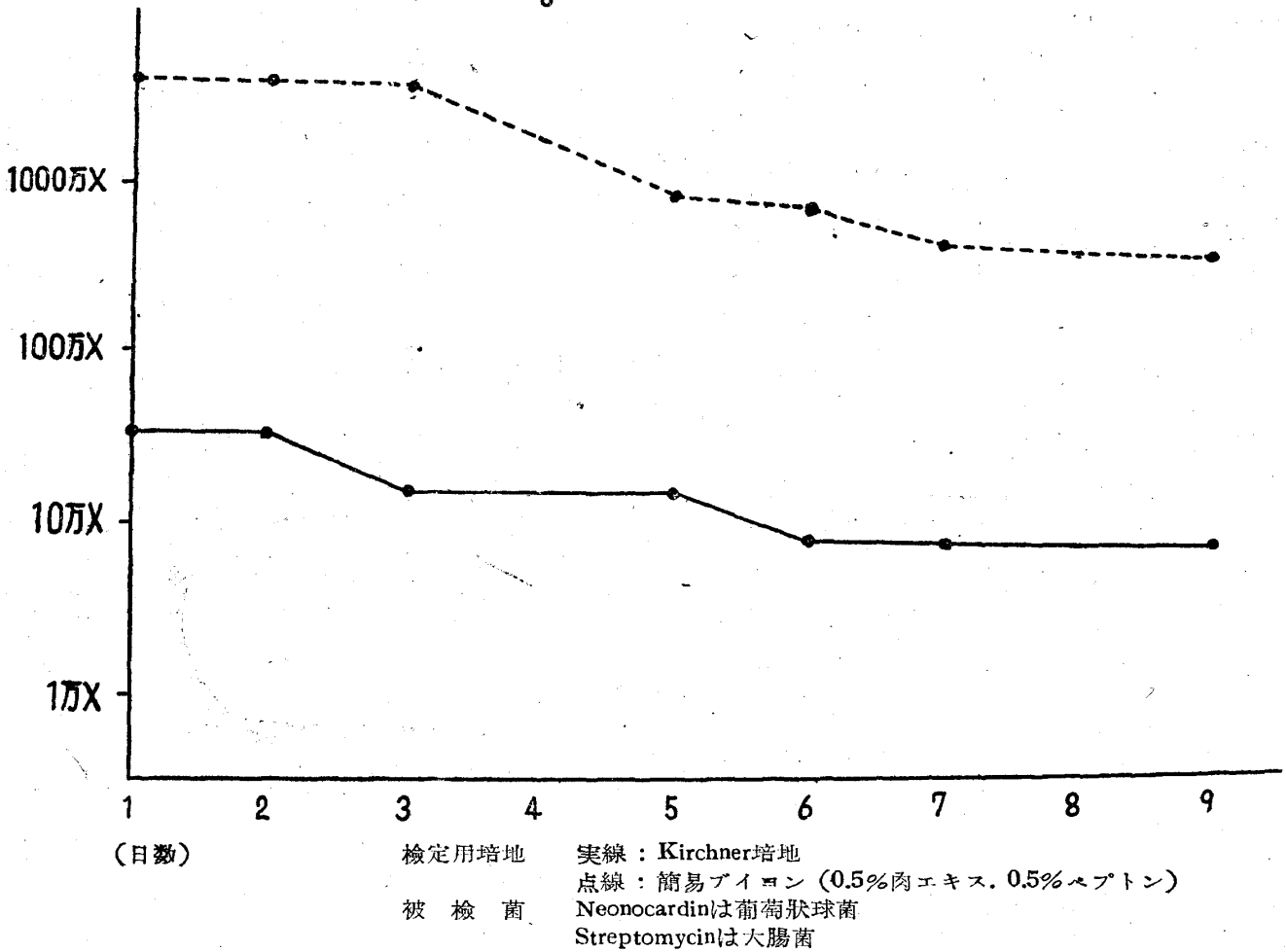
(1) 検査用培地の組成 これには速かに良好な菌発育を得る事と、薬剤に対する阻止物質を含まない事との2つの要求がある。これは互に矛盾する要求となる事が多い。(例：血清、ペプトン等)。逆に添加物の種類によつては薬剤の抗菌力を却つて高める場合もある。(ストレプトマイシンに於る Tween 80等)。

(2) 接種菌量：大量では速く発育するが薬剤の抗菌力を阻害する事が多く、少量ではその逆になる事が多い。

### (1) Neonocardin の場合



## (2) Streptomycin の場合



(3) 培養日数：第1図に示す様に Streptomycin も私の見出した Neonocardin もともに37°に置く事により急激に抗菌價の減弱を來す。それ故培養数週後にある薬剤が結核菌の發育を阻止しなかつたからと言つて、その薬剤が生体に用ひて無効であらうとは予断出來ない。培養翌日或は少く共数日中に抗菌力を決定する方法が執られなければならない。

(4) 培養方法：表面培養で菌膜の表面積或は重量を測定する方法では、成績の一定しない事が多い。Dubos 培地については材料の関係上筆者はその経験がない。目下の処では深部培養法或はその変法が適當と思はれる。

以上の様な矛盾した要求を可及的調和した *in vitro* 試験法を得るのが本研究の目的である。

今回は培養日数の短縮といふ点に主力を注いで検討した。

(1) 山田の考案した湿室法を應用し、載物硝子上に薬剤含有 Kirchner 培地 (但し血清の inhibitor としての作用を考慮し5%とす。以下同断) を滴下、菌液を混和、湿室に培養後、染色、弱拡大で検鏡する方法では約1週間後に判定可能となる。

(2) Kirchner 培地に予め菌を接種し、深部に肉眼可視集落を認めた時薬剤を加へ数日後に菌膜形成の有無を以て判定する方法では薬剤添加後5日前後で判定し得られる。

(3) Kirchner 培地に予め少量の菌を接種し、肉眼可視集落の生ずる以前に薬剤を加へ、その翌日から卵培地に分離培養を行ひ、卵培地上の集落数を数へて決定する方法では、薬剤添加の翌日分離した場合でも判定できる事もあるが、時には対照の卵培地にも集落を作らない事がある。

本法は接種菌量と薬剤添加迄の日数との関係を詳細に検討すれば優秀な方法となり得る。

(4) 薬剤を添加した Kirchner 培地に稍々多量の菌を接種、翌日卵培地に分離培養し、生じた集落数を以て決定する方法は接種菌量を適当にすれば優秀な方法である。目下の処、F株0.5mg/ml乃至0.1mg/ml, の菌液を0.04ml宛、1ml, Kirchner 培地に添加する事により、培養翌日(即ち薬剤添加の翌日)分離した卵培地上の集落数を数へて効果判定を行ひ得る事を知つた。

## 文 献

- (1) 長谷川秀治 結核の化学療法に関する研究、単行本 P.59, 昭和17年
- (2) Youmans Amer. Rev. Tbc., 56 : 5, 376, 1947.
- (3) Feldman & Hinshaw Amer. Rev. Tbc., 51 : 6, 582, 1945.
- (4) 山田 修 未発表

# 結核菌の「ビルレンツ」に関する再検討

## (附) 臓器内の生菌数について

(予 報)

上 坂 一 郎  
伊 藤 義 昭

結核に掲載予定

## 緒 言

結核菌の「ビルレンツ」(以下「ビ」と略す)とは一体何を指すのであろうか。結核菌が生体内に入れば、茲に菌の増殖が起り、更に菌に対する組織の反応によつて病変が起る。従来「ビ」測定法として賞用せられた方法は両者の中、組織の側の反応のみを指標として來た。それでは菌が生体内に入った後の菌の増殖力は無視してよいものであろうか。

或は亦、病変甚だしき時は必ずその臓器内の生菌数は大であると言つてよいであらうか。更に亦、臓器内の結核菌を分離培養するのに従来用ひられて來た苛性曹達、硫酸等による前処置は結核菌の生活菌の生活力に影響しないであらうか。

斯様な疑問から出發して我々は次の様な実験を行つた。

## 實 験

最近膿及び喀痰から分離した結核菌5株及びF株の各1ヶ月培養の菌を0.1mg宛、各株それぞれ6頭宛のモルモットの大腿皮下に接種し、1ヶ月毎に各株1頭宛を剖検し、6ヶ月に及んだ(途中斃死した場合には5ヶ月に留めた)。剖検に際しては肉眼的所見及び一部については組織学的所見を検すると共に、全例について肝片1gを無菌的に取出しHomogenizerにて均等乳化した後、4%及び1% NaOHにて30分処置後(対照は同量の蒸溜水を加へた)中和し、0.1c.c.宛卵培地に培養した。

その結果臓器の肉眼的変化と肝片内の生菌数とは全然一致しない事が明かとなつた。又4%NaOH処置により臓器内結核菌は著しくその發育力が障碍されるが、1% NaOHでは障碍の程度は軽い。

## 総 括

以上の実験は予報的な未完成なものであつて、早計に結核菌の「ビ」の問題に立入つて議論する事