

人爲的混合感染による空洞清浄化に関する研究

(第2報) 健康人の含嗽水より分離せる細菌を以てする実験

並 河 靖

緒 言

前報に報告した如く、本研究の目的は個体に対しては可及的無害で、空洞壁の乾酪物質に Saprophytic に繁殖し、之を融解排除せしめると共にその產生する抗結核菌性物質によつて、結核菌の發育を阻止する如き混合感染を惹起せしめ、空洞の治癒機轉に好影響を與へしめることにある。

先づその第一着手として、人体に対する病原性の無いこと、ペニシリン或はストレプトマイシンに対する感受性が高いこと、及びその種の菌の中からは既に結核菌に對す抗菌物質を產生する菌株が発見されて居ると言ふ点を根拠として枯草菌を選び、202株の分離した菌株に就いて詳細な検討を行つた。その結果空洞内容物中に於ける増殖は試験管内実験によつても不能であり、更にその中の一菌株を実際に4例の患者の巨大空洞内に直接注入して経過を観察したところ、之亦菌の増殖を期待し得ない結果を得た。

此の結果に鑑み今回は更に人体寄生性の大なる細菌で、而かも可及的に無害なるものに就いて実験を試みると言ふ意味から、健康人の含嗽水より分離した口腔及び咽頭の細菌に就て検索したので、茲に報告する次第である。

基 礎 實 験

実 験 第 1 結核菌に對し抗菌的に作用する菌株の選擇

実 験 方 法

スライド・カルチャー法を本実験に應用し、第1報基礎実験第1¹⁾に於いて述べたと同一の手技の下に実験し、結核菌培養24時間の時に被検菌1白金線頭量を同一培地に追加混合培養を行い、被検菌と結核菌を同一培地中で共存せしめ、培養6日後採り出して染色、檢鏡し、被検菌の添加培養後は完全に結核菌の發育増殖を阻止したものを選出した。

菌株番号T173号以下の本実験には患者喀痰中の結核菌の代りにソートンの液体培地に培養した結核菌青山B株を用いたの如く実験を行つた。

1) 發育旺盛な時期の結核菌青山B株の3mg乃至5mgを採り、之を予め石油ベンゼン2cc乃至3ccを容れた試験管に移して振盪し、菌苔より游離した結核菌によつて石油ベンゼンが僅かに濁濁を示した時に振盪を止めて試験管立てに静置する。

2) 約30分間静置して菌塊を沈澱せしめ、靜かにその上層を滅菌試験管に採り、之を更に石油ベンゼンで稀釈してその1白金耳を縦に半切した培養用のスライド・ガラスの一端約3cmの面に塗抹した際、顯微鏡1視野中結核菌數筒を算へる程度の結核菌石油ベンゼン浮游液を調製する。

3) 滅菌した培養用の半切スライド・ガラスに上述の結核菌石油ベンゼン浮游液を無菌的操作の下に同様に塗抹し、石油ベンゼンの乾燥後速かに試験管に分注したキルヒナー培地(10%山羊脱纖維素血液で調製)中に投入して培養に移す。

4) 以下は第1報基礎実験第1¹⁾実験方法5—8の通りに行う。

実 験 成 績

現在迄に健康人138名の含嗽水より分離培養した菌429株に就いて実験し、共存の下に結核菌の發育

増殖を完全に阻止した菌株26株を得た。

実験第2 動物に對し病原性無く、而も Saprophytic に存在し得る菌株の選擇

実験方法

体重 20gr 前後の雄マウスの腹腔内に普通寒天 24時間培養の菌 1/20 標準白金耳量を 0.5cc の生理的食塩水浮游液としたものを（肺炎双球菌と思われる菌株に在つては血液寒天斜面48時間培養の菌を 1cc の生理的食塩水浮游液とし、その 0.5cc を）夫々注意深く確実に注射し、16日後屠殺してその心血中及腹腔中の菌の有無を培養に依り証明する。同時に腹腔内諸臓器の変化の有無を肉眼的に検査し、更にフォルマリン水中に固定、保存する。

実験成績

実験第1を通過した菌株中現在迄に第1表の如く 8 株に就いて之を行つたが、1菌株 5 匹宛のマウスに注射して接種菌に因る敗血症を起して死亡したものは 1 匹もなかつた。又屠殺したものの心血中から接種菌を証明したのもなかつた。即ちマウスに對し病原性を有すると思はれるものは 1 例もなかつた。

然しながら屠殺時他方腹腔内より接種菌を培養によつて証明出来たのは T10 号株唯 1 例丈で、これは枯草菌であつた。即ち残余の 7 株はマウス腹腔内で 16 日以内に死滅してしまつたようである。

追加実験

後述 T134 号株による臨床実験に先立ち、該菌が肺炎双球菌と思はれる菌株であることよりして、更に家兎に對する病原性を家兎 5 頭の耳靜脈より前述のマウス腹腔内注射と同様にして得た菌液の 1cc を靜脈注射して検査したが、何等の特記すべき病變を起さなかつた。

実験第3 ペニシリン感受性菌の選擇

実験方法

第1報基礎実験第3¹⁾に述べた通り行つた。但し血清添加培地に良好な發育を営む菌株（T28号、T75号、T88号、T134号）に就いては普通ブイヨンに代るに 10% の割に山羊血清を加えたブイヨンを用いた。

実験成績

現在迄に 10 株に就いて実験を行い、第1表の如き成績を得た。

実験第4 結核性膿汁中で發育増殖する菌株の選擇

結核性空洞内容物を得る機会に恵まれなかつたので、止むを得ず結核性脊椎炎の流注膿瘍から穿刺に依つて無菌的に採集した膿汁中での被檢菌の發育増殖の有無を検し、それに依つて結核性空洞内容物中での發育増殖を推察せんと試みた。

実験方法

無菌的に採取した混合感染の無い結核性脊椎炎の流注膿瘍の膿汁 2cc 宛を滅菌小試験管に分注し、之に普通寒天 24 時間培養（肺炎双球菌と思われるものは血液寒天 48 時間培養）の菌液の極めて稀薄なもの 1 滴を加え良く振盪攪拌して均等に混和した後、その 1 標準白金耳量を普通寒天平板（又は血液寒天平板）に塗抹培養する。更に被檢菌を混じた結核性膿汁の小試験管は内容の蒸発乾燥を防ぐ爲に封蠟して 37°C 24 時間及び 48 時間又は 48 時間及び 72 時間培養した後、前回と同一の操作のもとにその 1 標準白金耳量を普通寒天平板（又は血液寒天平板）に塗抹培養して、結核性膿汁に混じた被檢菌が 37°C 24 時間及び 48 時間（又は 48 時間及び 72 時間）の培養によつて發育増殖したか否かを各時期の培養により夫々普通寒天平板（又は血液寒天平板）に生じた被檢菌の聚落の数から判定する。

又別に補助実験として上述の被檢菌の極稀薄な菌液 1cc を平板に注ぎ、更に血清添加培地に良好な發育を営む菌株

(T28号, T75号, T88号, T134号)の平板には夫々山羊血清 1cc を添加したる後 50°C の溶解した普通寒天を注ぎ均等に混和, 冷却, 凝固を待ちて, その平板の中央に結核性膿汁の 1 滴を滴下し, そのまま静かに孵卵器に収めて 24 時間及び 48 時間後の被検菌聚落の発生状態を検査して, 膿汁の周囲に明らかに発育阻止帯の生じたもの, 即ち結核性膿汁中で明らかに発育増殖を阻止されるものを選出して前述の本実験の補助とした。

実験成績

現在迄に T146号迄の 10 株に就き本実験を行つたが, 結核性膿汁中で明らかに増殖を示したものは僅かに T134株のみであつて, 他は第 1 表の如き成績であつた。

第 1 表 含嗽水より分離した菌株による基礎実験成績 (其の 1)

菌株番号 (T)	I S・C・M 菌の発育 後の増殖 共結核 存核	II 腹 種 腔 内 マ ウ ス の 接		III ペニシリン の発育阻 止に濃度 (単位)	IV 汁中で培養して 結核性膿汁 増殖 生存 死滅		
		腹り検 腔の出 よ菌	心り検 血の出 よ菌		増 殖	生 存	死 滅
10	—	+	—	0.1			+
28	—	—	—	0.01		+	
75	—			0.005		+	
88	—	—	—	0.05		+	
89	—			0.005		+	
110	—	—	—	0.005			+
113	—	—	—	0.05		+	
134	—	—	—	0.05	+		
143	—	—	—	0.1			+
146	—	—	—	0.1		+	

考察及び結論

現在尚ほ実験途上であつて最終的な考察, 結論を下し得ないが, 基礎実験第 1 ~ 第 4 を経た T1 号より T150 号迄の健康人 54 名の含嗽水中より分離した 150 株の菌に就いては基礎実験の総てを通じて特に有望と思はれる菌株を選出し得なかつたが, 唯本研究に於て現在迄に行つた総ての検索菌を通じて未だ嘗て得られなかつた結核性膿汁中で発育増殖する菌を今回始めて T134 号株に於て発見することが出来たことは, 本実験の前途に光明を点じたものと言ふことが出来よう。幸に T134 号株は再度の家兎を以てする動物実験に於ても何等の認む可き毒性を発揮しないことを確認し得たので, 之を以て一應は臨床的な應用に迄進めて見る事が出来得ればと思推せられる。

尚ほ T155 号以下 16 株の基礎実験第 1 を通過した菌株に就いては更に実験第 2 ~ 第 4 に進める予定である。

臨床実験

実験第 1 T134 号株による実験

第 1 例

患者は 52 才の男子, 正線写真上右上葉が殆んど全部空洞化したかの如き巨大空洞と左上部に小空洞を伴う浸潤像を示して居り, 喀痰中結核菌はガフキー VII 号 ~ IX 号, 昨年枯草菌 SI7 号株を空洞内注入して格別の変化を見なかつた患者であるが, 患者の希望に依り T134 号株の血清加ブイオン 48 時間培養 2cc を直接長針にて右側の巨大空洞に空洞穿

刺を行い徐々に注入した。

経過 体温は注入前時に 37°C 位の微熱を示して居たが、注入後翌日 37.7°C 、爾後漸次低下を示し注入後第2週日より平熱となつた。

一般状態は格別の変化を見なかつた。

咳嗽、喀痰は喀痰の粘稠度が若干減少した以外に著変を見ない。

結核菌の消長は注入前常にガフキーⅦ～Ⅸ号を示して居たが、注入後次第に菌数減少し、注入後第2週にはガフキーⅠ～Ⅳ号と好調を続けたが、喀痰中の注入菌 T134号株の消失に伴い再度増加した。

喀痰中注入菌の消長は注入後2日間は多数に証明され、4日目以後8日目迄は今常少量を認めたが、10日目以後は僅かに13日目に一度注入菌と思われる菌聚落を平板上に数個認めたのみで爾後陰性となつた。

考察及び結論

臨床実験僅かに1例のみで何等の結論も出し得ないが、唯空洞内に注入した T134号菌も生体空洞内では尚ほ發育増殖する能力が無いか或は非常に乏しい様であり、この事は基礎実験第2に於て同菌がマウス腹腔内に16日目には生存して居なかつた事実と併せ考察する時今後は尚ほ一段と生体内寄生性の強い菌株の検出に努める必要を痛感する。

僅か1例の結果のみで本菌は全く価値なきものと決定するのは尚早と考へられるから更に臨床例を増して検討することが必要と思はれる。

最後に注入菌が早期に消失した爲所期の診療効果は挙げ得なかつたが、たとへ僅かの期間とは云へ喀痰中結核菌を減少し得た事実は今後の本研究に希望を興へ得るものであらうと考へらる。

文 献

- 1) 辻，並河；京都大学結核研究所年報第2号（昭26.3）
- 2) 辻，山本其他；本年報

結核菌の病原性に関する実験的研究（第1報）

日 置 辰 一 朗 （市立京都病院）
 安 平 公 夫 （京大結研第5部）
 田 中 久 勝 （市立京都病院）

まえおき

動物の種類によつて結核菌に対する感受性が異なることは周知の事実であり、程度の差こそあれ之と同様の事実が同じ動物の品種の違い又は各個体の間にも相像せられる。人に就いても同様な推測が許されるであらう。しかるに此事実のよつて来る本態に就いては殆ど何も判つていないと云つてもよいので、ただ近年の研究によつて此現象が遺傳的な要素によつて支配し得られることが知られているのみである。この現象を一般に体質と呼び慣はしているが、之は何の説明にもならない。

元來結核症（或はひろく細菌性疾患）なるものは、結核菌（病原菌）に対する個体の反應の現はれである。人も各種の動物も生物学的には同様な組織發生の基本型をもつものであるから、個体によつて結核症の様相に多くの相違点があるとしても、その差異は決して本質的な差異ではあり得ない。結果的に見て結核菌の力に打勝ち得る様な反應を示す場合に之を抵抗力と呼び、結核菌の力が勝る場合に個体は感受性ありと称するのであらうが、それらの反應が決して全く別個の現象として現はれる筈はないのである。恐らくは同様の反應の量的な差異として理解出来る筈である。