

(其の1) 結核菌の形態及び發育様式に関する研究補遺

〔本研究に對して文部省科學研究費の補助を得た事を深謝する。(植田三郎)〕

所謂菌体表物質の検討

植 田 三 郎
山 田 修

本稿の要旨は東京医事新誌67卷3号6頁(昭和25年)に發表した。

コッホ桿菌はその体表に何か特殊な被膜を持つのではないかと云ふ事が一般に憶測せられてゐる。此事はコッホ桿菌が示すところの特殊な染色性、即ち抗酸性を理解する爲めに、Ehrlich, Knaysi 等に依つて提議せられたのに始まるやうである。此様な特殊な被膜が存在するのではなからうかとの考へ方は、独り抗酸性のみならず、亦結核菌の示す特別な抵抗性の理解の爲めにも利用せられた。即ち菌体表に在る蠟様物質から成る特殊な被膜が、結核菌の特殊な染色性、抵抗性等の特徴を規定するとの考へ方がそれである。併し乍ら斯様な考へ方は実証を缺き、亦その様な考へ方によつては、菌体の物質代謝が果してどの様にして営まれるかを考察する事も出来ない。

近時一部の研究者は此様な点を顧慮して、上述の如き考へ方から次第に遠ざかりつゝある。特に最近 Hart⁽¹⁾ がストレプトマイシン其他の水溶性の物質が結核菌に顯著な影響を及ぼす事実に顧み、蠟様被膜の考へ方は須く放棄せられなければならないと主張した事は注目すべきである。報告者の一人植田⁽²⁾ は体内並に体外に於ける結核菌の示す特殊な抵抗性の拠りどころを既に変性して抗酸性と成つた形態に求めやうとする事が無意味であつて、むしろ抗酸性に変性する前の段階の易染性物質を持つた形態に求めなければならない事を指摘した。而も抵抗性の拠りどころは特殊な菌体表物質を離れて、發育の一定の段階に在る易染性形の構造の中にそれを求め得る事を明らかにした。

併し乍ら他方結核菌の發育を見るに、發育して生じた連鎖更にそれから出た分枝は相互に接着して集束を形造り、集束は交錯、吻合して集落を形造る。即ち此様な配列、集落形成の過程は、菌体相互の接着を容易ならしめる様な装置、機構の存在をわれわれに暗示する。事実染色標本を見るに、集束中の菌体は相互に直接密接するものではなく、接着した菌体相互の間には僅少ながら一定の隔りがある。染色せられ難い或種の物質が接着した菌体の間隙に介在する事を窺はしめる。日常喀痰、膿等の塗抹標本をチール、ネールゼン法其他で染色、觀察する際、赤染したコッホ桿菌が往々一定の廣さの不染色環狀帶で包まれたのを見る場合があるが、此事も亦上述集束中の菌体に就て爲した想定を支持するやうである。

下記は所謂菌体表物質の立証の爲めになされた実験、並びにそれに立脚する同物質の性質及び意義に関する考察の概様である。

(1) 研究方法並に材料

供試菌株。結核菌人型F株、同牛型RM株、同鳥型鳥京株、BCG及び非病原性のスメグマ菌を供試した。何れもキルヒナー培養基に培養し、既報⁽²⁾の如くして發育極初期の菲薄な菌膜を小形のスパーテ

ルにて注意深く掬ひ取り、載物硝子に貼付して後、下記の如く染色した。尙潰磨菌液の塗抹標本は卵培養基（上坂、友田）2週間前後の培養を材料とした。

染色方法。イ、墨汁を用ひる方法。發育初期の菌膜を載物硝子上の1滴の蒸溜水中に靜かに浮游せしめ、孵卵器内に放置して乾燥せしめた。火焰に固定して後、石炭酸フクシンにて2分間微加温染色し、水洗、乾燥した。稍々淡い墨汁の1滴を標本上に滴下し、直ちに載物硝子を傾斜して墨汁を棄て、孵卵器内で乾燥せしめた後、レフレル氏メチレン青液にて1分間内外染色し、水洗、乾燥した。

（註）墨汁は良質の墨を蒸溜水にて磨り、濾紙にて濾過し、更に遠心沈澱して使用した。ロ、血清を用ひる方法。載物硝子上に10乃至20倍に稀釈した血清（家兎）の1滴を置き、上述同様の發育初期の菌膜をその上に浮べた。孵卵器内に放置、乾燥して後、火焰で稍々強く固定した。石炭酸フクシン液で2分間微加温染色し、3%鹽酸酒精にて10秒間脱色、水洗し、レフレル氏メチレン青液を標本上に注ぎ、直ちに載物硝子を傾斜して乾燥せしめた。菌浮游液の塗抹標本も亦、略々上記同様にして染色した。

（2） 所見概括

イ、墨汁を用ひる方法

視野は暗褐色であつて、その中に特徴のある配列をした菌を見るが、絲狀形、桿狀形、抗酸性の桿狀形及び発芽がいづれも脱落せずして正しく配列した部分を選んで觀察するに、例へば鳥型菌では、連鎖乃至分枝の最先端の絲狀形及び発芽は淡青色に染まり、その周縁には何物をも見出さない。絲狀形に続いて連る桿狀形は稍々濃染し、その周縁は不染の儘多少重屈折性を示すところの極薄い層で包まれる。更に続いて連る抗酸性の桿狀形に於ては、淡く赤染した菌体の全周に上記同様の不染の層が認められる。以下連鎖或は分枝の基部に辿るに従ひ、抗酸性の桿狀形は次第に抗酸性の程度を増して濃染し、次第に明瞭な不染色環狀帶をその周縁に示す。不染色環狀帶の幅は抗酸性菌体のその凡そ $\frac{1}{2}$ 内外である。

スメグマ菌は上記病原性ミコバクテリウムとは稍々趣を異にし、発芽後の桿狀形が抗酸性に変化するのが遅れるのと並行して、その周縁に上記の如き不染色環狀帶の出現する事も亦徐々である。

尙菌浮游液の塗抹標本に於ても、注意して觀察すれば、不染色環狀帶は抗酸性の桿狀形の周縁には殆んど常に見出されるが、易染性形の周縁にはそれが僅かに認められるものと、殆んど認められないものとがある。

ロ、血清を用ひる方法

視野は青く、その中に特徴のある配列をした菌を見る。所見は概してイ、と同様であるが、此場合はイ、よりも菌体が濃染し、且つ所謂菌体表物質の輪廓がより鮮明である。

ハ、所謂菌体表物質の性質

色素に対して親和性の乏しい………少くとも上記の如き染色法に於ては………物質である事は明らかである。

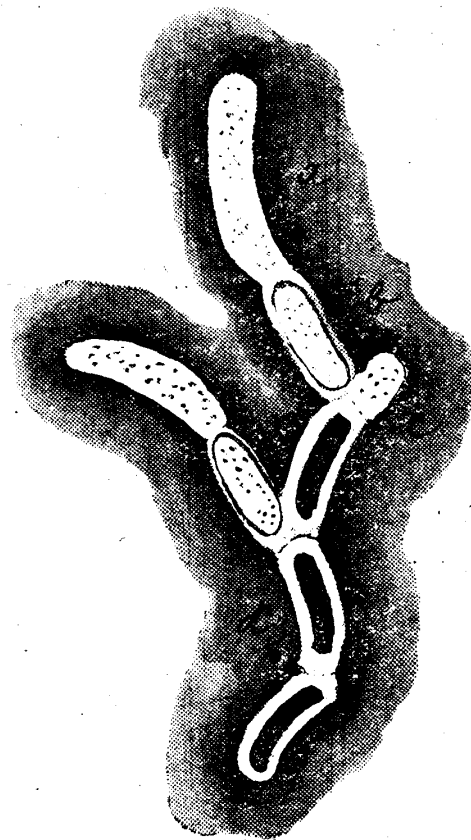
（3） 総括並に考案

上述の如くして我々は結核菌の菌体表に一定の物質が、恰も細菌の莢膜の如き形で存在する事を明らかにする事が出来た。而て我々の觀察したものは Churchman and Emelianoff⁽³⁾ が嘗つて牛型結核菌に就て、又古賀が紫外線顯微鏡を用ひて、又劉⁽⁴⁾が各型結核菌に就て觀察したものと、恐らくは同一物ではないかと考へる。併乍ら安住⁽⁵⁾が各種の細菌に就て、又其後岡、寺田、青山等⁽⁶⁾が結核菌に就て、觀察した物質（菌量）はその幅が廣く、且つ振盪其他の影響に依つて脱落し易いと言はれる点等から判斷すると、此物は上述に於て觀察した菌体表の不染色環狀帶とは全く相違するものとせなければな

らない。

此様にして見出した菌体表の物質を唯々個々の菌体に就て穿鑿したのでは得るところが少い。⁽²⁾ 既報に於て明らかにする事の出来た結核菌の發育様式に則して、乃至はその發育過程に添つて此物を眺める事によつて、それがどのやうにして生じ、又どのやうな性質の物であるかを初めて知る事が出来る。此所謂菌体表物質は連鎖或は分枝の先端の絲狀形の周縁に見出し難いにも拘らず、それに続いて連る桿狀形の周縁には僅少乍ら見出され、更にその後続いて連る抗酸性の桿狀形に至つてその周縁に明瞭に出現する。

第1圖 鳥型菌初期菌膜を墨汁法で処理したもの（多少模型化）



- a. 非抗酸性絲狀形
- b. 非抗酸性桿狀形
- c. 発芽
- d. 抗酸性桿狀形

而てその際見逃してならない事は、第1図に見る如く、所謂菌体表物質を殆んど持たない絲狀形も、同物質を僅か乍ら持つ桿狀形も、更に明瞭に同物質を示す抗酸性の桿狀形も、いづれもの所謂菌体表物質を含めた幅が等しいと言ふ事である。⁽²⁾ 既報の發育初期菌膜の染色所見からすれば、絲狀形の基部が成熟、分離（分節）して桿狀形を生じ、桿狀形はやがて発芽し、それと前後して抗酸性に変化する（例へば鳥型菌の場合）と言ふやうな發育の過程が考へられるのであるが、此處で觀察した所謂菌体表物質は上述の如き發育の過程の間に出現するものである事が分る。

此様な菌体表物質の本質に就いては、未だ知る事は困難であるとしても、上述の發育過程との關聯から考察する時は、易染性形の成熟次で変性の過程に伴つて出現するものである事は略々疑ひの余地が無い。此處で絲狀菌の節中に孢子（Chlamydospore）が形成せられて行く過程を参照するならば、菌絲の各節はその際全体として收縮して孢子に変化せずして、各節中の一定の部位に生活物質が凝縮して孢子を形造る。孢子以前の部分は孢子を形造る前の形、大さの儘で留まる。此様にして取残され

た節の部分は染色性が減弱するのが通常である。是と全く同一であるとは言へないにしても、略々近似した変化が結核菌が成熟し、発芽し、変性する過程の間にも亦起るのではないかと考へる。若し此様な考察が當を得たものであるならば、此処に言ふところの所謂菌体表物質は菌体の表面に作り出され、乃至は存在する物質でない事と成る。絲狀菌の菌絲にも擬すべき絲狀形がその基部から次第に成熟して、易染性物質は除々に顆粒狀に凝縮する。やがてその部分は分離して分節を生じ、生じた分節即ち桿狀形の内部に於ては成熟の過程は更に進み、易染性顆粒以前の部分も亦收縮する。その際桿狀形の表面に近い部分が取残された部分が上述の如く染色困難な環狀帶として觀察せられるのではないのであろうか。桿狀形が頓て発芽し、易染性顆粒を失ふに到つて、其他の僅かに易染性の部分は更に收縮する。これと前後して此様な取残された易染性物質は抗酸性に変化するから（例へば鳥型菌の場合）、抗酸性の桿狀形の周縁には不染色の環狀體が一層明瞭に出現するのではなからうか。此様な考察からすれば、その当然の結果として、所謂菌体表物質なるものは実際には存在しない事と成る。桿狀形の成熟に伴い、その表面に近い染色困難な物質が露出する。此露出した部分が上記の如く不染色の環狀帶として、一見恰も菌体表に在るかの如く見える物に相当する。此様な考察からすれば、在來結核菌の特別な染色性及び抵抗性の拠りどころとしてその存在を憶測せられた特殊な被膜の存在を疑はねばならない。

それでは結核菌が発育する時、発育して生じた連鎖及び分枝は相互に接着して集束を形造るが、此様な機轉をどのやうに説明すればよいであらうか。此機轉を特殊な被膜の存在に求める事はも早や出來ない。併乍ら次の事実から見ても細胞膜に相当するところの菌体の表面の性質に、その様な機轉の拠りどころを求める事は可能であらう。例へば下記大岩の觀察にも見る如く、結核菌が油水系に於て抗酸性形、非抗酸性形の別なく、極めて容易に吸着せられる事実から見ても、結核菌の菌体表は細菌のそれとは全く異り、むしろ放線狀菌、絲狀菌のそれに類似して、強い吸着性を持つ事が知られるからである。

結 論

結核菌……ミコバクテリウム……の菌体表に見出される染色困難な環狀帶（所謂菌体表物質）は菌体の周縁に存在するものではなく、亦菌体がその外周に作り出した物質でもない。此物は發育形である易染形の成熟に伴ひ、その内部の生活物質が凝縮する時、その外側に取残された桿狀形の部分であつて、発芽と前後して桿狀形が抗酸性に変化する時、一層明瞭に出現するものに過ぎない。

文 献

1. P. D. Arcg Hart, Amer. Rev. Tuberc., 59 : 223, 1949.
2. 植 田 三 郎, 日本医学及健康保險 3319号 9頁 (昭和18年)
同誌 3323号 5頁 (同年)
日本医学 3423号 16頁 (昭和23年)
東京医事新誌 66卷 8号 10頁 (昭和24年)
同誌 66卷 11号 3頁 (同年)
同誌 67卷 1号 9頁 (同25年)
同誌 67卷 2号 10頁 (同年)
3. Churchman a. Emelianoff, Journ. Exp. Med., 57 : 485, 1933.
4. 古 賀 新, 京都医学會雜誌 37卷 1658頁 (昭和15年)
5. 劉 榮 標, 日本医学及健康保險 3254号 2519頁 (昭和16年)
6. 安 住 武 八, 東京医事新誌 1763号 323頁 (昭和7年)

7. 岡 安 正, 第15回聯合微生物學會記録 13頁 (昭和16年)
8. 寺 田 正 中, 日本医学及健康保險 3299号 5頁 3300号 36頁 (昭和17年)
9. 青 山 敬 三, 結核病學會報告 (同12年)
10. 大 岩 弘 治, 本 誌

抗酸性物質の出現に関する考察

植 田 三 郎

本稿の要旨は東京医事新誌 67巻 10号 5頁 (昭和25年) に発表した。

(1)
既報によつて、結核菌の体外及び体内に於ける發育様式と、それに伴ふ形態、染色性の変化とを略々明らかにする事が出来た。唯併乍らそれらの記載に於ては、結核菌の各菌型及び非病原性のミコバクテリウム (スメグマ菌) を通じて、その發育及びそれに伴ふ形態、染色性の変化を一貫する共通した基本的な様式を見出さうとするに急であつた爲めに、それぞれの菌型の形態、染色性の変化に関する記載に稍々不備な点があつた。此様な記載の不備を招いたのは、一つには下記の如き事実の潜在する事に氣付かなかつたからである。茲には其後の考察の一部を追加し、兼ねて今日迄の報告に於ける記載の不備を補ひ度いと考へる。

A 抗酸性物質出現の時間的關係

キルヒナー培養基の發育初期の菌膜を見るに、既報⁽¹⁾の如く非病原性のスメグマ菌に於ては、連鎖或は分枝の先端の絲狀形それに続く桿狀形は通常非抗酸性易染性であり、それに続いて連る既に發芽を持つた桿狀形も尙且つ非抗酸性であつて、連鎖或は分枝の先端から4番目乃至5番目に位置する桿狀形、即ち既に稍々長い發芽乃至小分枝を持つ桿狀形に於て、初めて抗酸性物質が出現し始め、チール・ネールゼン法で淡紫色に染まり、以下の桿狀形に於て抗酸性は次第に強く成る。然るに同様に培養した鳥型菌を見ると、絲狀形及びそれに続いて連る桿狀形は通常非抗酸性、易染性であるが、次に連る桿狀形に於て既に僅少乍ら抗酸性物質が出現し、チール・ネールゼン法で紫色乃至紫赤色に染まる。以下の桿狀形に於ては順を追つて抗酸性は次第にその程度を増す。更に同様に培養した人形菌及び牛型菌を見ると、連鎖或は分枝の先端の絲狀形の前半及び短小なる發芽は非抗酸性、易染性であるが、絲狀形の基部及びそれに続く桿狀形中には既に抗酸性物質が僅少乍ら出現して紫色乃至紫赤色に染まり、以下の桿狀形に於ては抗酸性はにはかにその強さを増す場合が多い。

此様な所見からすれば、抗酸性物質の出現は一見菌型によつてその出現に遲速の差があるかの如くである。併乍らそのやうな判断が誤りである事は、是等の菌型それぞれの發育の速さを考慮する事によつて明らかと成る。スメグマ菌に於て抗酸性物質が連鎖の比較的基部の桿狀形中に初めて染め出されるのは、抗酸性物質の出現がそれ丈遅い爲めではなく、此菌の發育がそれ丈速かであるからに過ぎない。鳥型菌に於て通常連鎖の三番目の桿狀形中に、又人型及び牛型菌に於て絲狀形の基部及びそれに続く桿狀形中に、既に抗酸性物質が証明出来るのは、是等の菌型に於てはスメグマ菌に於けるよりも抗酸性物質の出現がそれ丈速かである爲めではなし、是等の菌型の發育がスメグマ菌よりもそれ丈遅い事を示すに過ぎない。それぞれの菌型の發育の速さを顧慮する事によつて、各菌型を通じて抗酸性物質は略々等しい時間に出現するのではないかと言ふ事が窺はれる。