

〔第7部〕 細菌血清學部 (主任 教授 植田三郎)

組織特に乾酪竈内の結核菌 其形態と發育様式に就て

植 田 三 郎

体外、培養基上に於ける結核菌の發育様式並に發育に伴ふ形態、染色性の推移⁽¹⁾に於て明らかにするところがあつた。今回は組織特に乾酪竈内の結核菌の形態、染色性並に配列に就て検討を試み、その發育様式を窺知しやうと企てた。何故乾酪化組織を特別に材料として選択したか。それは次の様な理由による。乾酪竈乃至はそれに由來する材料例へば流注膿瘍の内容等に於ては、通常抗酸性のコツホ桿菌を見出す事が一般に困難である。にも拘はらずそれ等の材料を培養するならば、多数の集落が發育する。材料中に見出される抗酸性の形態の数と發育する集落の数との間に著しい不一致がある。集落の数に比較して抗酸性の形態のそれは餘りにも少数に過ぎる。即ち是等の材料中には抗酸性の形態とは別に發育力を持つた何か他の形態的要素が存在せなければならない。發育力を持つた要素⁽²⁾としては不可視の形態例へば濾過形の如きものが、或は又ムツフ顆粒の如きものが擬せられる。最近隈部も亦同様の考へ方に拠つた。併乍ら此様な考へ方で附隨した疑問が都合よく説明出来るであらうか。私の見方、考へ方からすれば、抗酸性の形態即ちコツホ桿菌は發芽によつて生活物質を失ひ、既に変性し、發育力を失つた形である。ムツフ顆粒も亦同様に變性産物と見做される。即ち当然何か他に發育力を持つた要素を探索しなければならない。探索するとせば、私の見地からすれば、非抗酸性の形態でなければならない。乾酪物質乃至はそれに由來する材料を専ら選んだのは此様な理由からである。以下はそれ等の材料中の非抗酸性の形態の染色、觀察の爲めに企てられた実験の概要である。

第1報 染色方法の考案。

1. 研究材料。

(1) 發育初期の菌膜。⁽¹⁾ 既報の如くして、人、牛、鳥型結核菌及びスメグマ菌のキルヒナー培養基の發育極く初期の極めて菲薄な菌膜を採つて、載物硝子に型の如く貼付した。

(2) 菌浮游液。各型結核菌及びスメグマ菌のグリセリン、ブイヨン或はソートン培養基の菌膜を採つて、食塩水中に浮游した。

(3) 乾酪物質の塗抹標本。人型結核菌F株及びBCGを皮下に感染せしめたモルモットの種々の時期の局処淋巴腺を剔出して、その乾酪物質を塗抹した。又手術或は剖檢に依つて得た人の肺、腎、淋巴腺、骨組織中の乾酪物質並に流注膿瘍の内容を塗抹した。

(4) 乾酪化組織の切片標本。(3)と同じ材料をパラフィン切片とした。

〔結核性材料を分與せられた本学医学部泌尿器科学教室稻田助教授、同外科学教室白羽講師、同整形外科教室山田講師及び結核研究所病理学部家森助教授に深謝する。〕

2. 染色方法。

(1) チール、ネールゼン法。 石炭酸フクシン 2 分間微加温染色、3 % 塩酸酒精 10 秒間脱色、水洗、レフレル氏メチレン青 1~2 分間後染色。

(2) チール、グラム法。 石炭酸フクシン 2 分間微加温染色、3 % 塩酸酒精 10 秒間脱色、水洗、石炭酸メチル紫 2 分間染色、ルゴール液 2 分間、純酒精脱色。

(3) チール、ムツフ法。 ワイス或はフオンテ法を利用した。

(4) チール、ハイデンハイン法。 石炭酸フクシン 2 分間微加温染色、3 % 塩酸酒精 10 秒間脱色、水洗、1 % 鉄明バン中に 15 時間以上、水洗、1 % ヘマトキシリンにて数時間以上染色、水洗、2 % 次で 1 % 鉄明バンにて数分間弁色、水洗、乾燥。

(註) 本法は最初チール、ヘマトキシリン法と銘名したが、それでは在來の方法と混同する憂があるから、今後は上記の如く呼ぶこととし度い。

尙切片標本に対しては、石炭酸フクシン 2 時間孵卵器にて染色、1 % 塩酸酒精 10 秒間、70 % 酒精 1 分間脱色、水洗後、それぞれ上記と同様にして後染色を施した。染色、水洗後は濾紙にて脱水、無水酒精を極短時間通過後、キシロールに浸し、バルサムに封じる。

3. 染色所見概括。

(1) チール、ネールゼン法による所見。

發育初期の菌膜の貼付標本に於ては、⁽¹⁾既報の如く、抗酸性形は赤染し、連鎖或は分枝の先端の絲狀形、それに続く桿狀形及び発芽は青染する。菌浮游液の塗抹標本に於ても亦、注意して觀察すれば、赤染菌体に混じて青染菌体を見出す事が出来る。併乍ら乾酪組織、膿等の塗抹標本或は切片標本に於ては、核の破片、撒布せられた細胞顆粒、其他の凝固物が同時に青染する爲めに、青染した非抗酸性形を見出す事は可能であつても容易ではない。従つて乾酪組織、膿等の塗抹標本或は切片標本に此染色法を試みる事は、有利ではない。

(2) チール、グラム染色法による所見。

發育初期菌膜の貼付標本に於ては、絲狀形及び発芽はグラム弱陽性を示して平等に淡紫色に染まる。絲狀形の基部及びそれに続いて連る桿狀形は強陽性を示して濃紫染する。是等の後に連る桿狀形は抗酸性を示して赤染する。菌浮游液の塗抹標本に於ても亦、赤染した抗酸性形の間に混じて、グラム陽性に染まつた非抗酸性形の散在するのを見る。併乍ら乾酪組織、膿等の塗抹標本或は切片標本に於ては、赤染した抗酸性形を見出す事は容易であつても、グラム陽性の非抗酸性形を見出す事は(1)同様の理由で容易ではない。従つて乾酪組織、膿等の塗抹標本或は切片標本に此染色法を試みる事は有利ではない。

(3) チール、ムツフ法による所見。

發育初期菌膜の貼付標本に於ては、連鎖乃至は分枝の先端の絲狀形中には大小不同のあるムツフ顆粒が稍々不規則な間隔を置いて配列し、その基部に在るものは概して大きい。次に連る桿狀形に於ては、尙多少大小不同であるが、概して大形の顆粒が 3 乃至 4 個稍々規則正しく一定の間隔を置いて配列する。以下の抗酸性形の中には略々大さの一定した 3 乃至 4 個のムツフ顆粒が略々一定の間隔を置いて規則正しく配列する。上述所見を参照しつゝ菌浮游液の塗抹標本を注意して觀察すれば、抗酸性形と非抗酸形とを區別する事は強ち困難ではないが、容易であるとは言へない。従つて又乾酪物質、膿等の塗抹標本或は切片標本に此染色法を適用する事は可能であるとしても、有利ではない。

(附 記)

上記チール、グラム法による所見とチール、ムツフ法によるそれとを比較、対照する時、グラム陽性物質とムツフ顆粒との関係を多少とも窺知する手がかりが得られる。グラム陽性物質とムツフ顆粒との間に緊密な関係の有る事は勿論否めないが、両者を同一物であるとする在來の考へ方、即ち結核菌（ミコバクテリウム）のグラム陽性物質がとりも直さずムツフ顆粒であるとする在來の考へ方には賛し難い。絲狀形の發育、成熟に伴れて、その内部に平等に分布するグラム陽性物質が次第に凝縮してムツフ顆粒を形造るのではなからうかとも考へたが（既報）それよりは絲狀形の成熟に伴れて、その内部に生じた何か或る代謝産物が……例へば或種の脂質の如きものが……グラム陽性物質を結合して顆粒状と成ると考へる方が、むしろ正しい事を上述の觀察から知る事が出來た。何故かなれば、連鎖乃至は分枝の先端の絲狀形中にはグラム陽性物質が均質に分布し、その中に大小不同のあるムツフ顆粒が稍々不規則な間隔を置いて出現する。絲狀形の基部及びそれに続く桿狀形はメチレン青或はヘマトキシリン染色の場合から考へても菌体内物質の凝縮した時期であつて、恰も絲狀菌の胞子にも擬すべき發育休止期の形態であると判断せられるが、グラム染色法に依つても亦僅かに顆粒状の構造を窺はしめはするが、概して一様に濃染する。併乍ら同じ部分がムツフ染色法では一様に濃染せずして以下の抗酸性の桿狀形と同様に 3, 4 個の濃染顆粒を明らかに示す。而て此様な桿狀形が次で發芽するに至れば、發芽中には明らかにグラム陽性物質を証明する。即ちグラム陽性物質は發芽の方に移行する。發芽した桿狀形は次第に抗酸性に変化し、その中にはグラム染色法で僅かに陰影様に染まる 3, 4 個の略々大さの一定した顆粒が略々一定の間隔を置いて規則正しく配列するのを見るにとどまる。併乍ら若しムツフ染色を施すならば、上記陰影様の顆粒の位置に一致して多少前者よりは小形ではあるが明瞭な濃染したムツフ顆粒を見る。即ち是等一聯の所見が上述の如き判断の拠りどころであるが、何れ此点に関しては大岩が詳細を盡すであらう。

(4) チール、ハイデンハイン染色法による所見。

各型結核菌の發育初期菌膜の貼付標本を見るに、チール、ネールゼン法にて青染する部分即ち連鎖乃至分枝の先端の絲狀形、それに続く桿狀形は黒色に染まり、それ等の後に続いて連る多数の桿狀形は赤染する。

是は独り此染色法の場合にのみ限らないが、スメグマ菌は病原性菌に比較して發芽後に変性して抗酸性に変ずる事が遅れる爲めに……逆に言へば發育が速かである爲めに、……發芽後の菌体が尙多少ヘマトキシリンに染着し、徐々に抗酸性に移行して行く。併乍ら此様な事は病原性菌には見られない。

菌浮游液の塗抹標本に於ても亦、赤染した抗酸性形とヘマトキシリンに黒染した非抗酸性形とを區別する事は容易である。以上の所見に力を得て、乾酪組織或は膿等の材料の塗抹標本或は切片標本に此染色法を試みた。然るところ崩壊した核破片、細胞顆粒、其他の凝固物が濃褐色に染着し、それ等の中多少とも桿狀に配列するものは非抗酸性形と紛はしい場合がないでもないが、少しく注意すれば見誤る様な事はない。此場合抗酸性形は言ふ迄もなく明瞭に赤染する。

此染色法に依つて、乾酪物質の塗抹標本中の非抗酸性形の觀察が初めて容易と成つた。同時に乾酪組織の切片標本に利用して有利である事を知つた。

總 括。

乾酪組織の塗抹標本或は切片標本中の結核菌抗酸性形及び非抗酸性形を同時に染色、觀察する爲めには、チール、ハイデンハイン法が適當である。

結核菌（ミコバクテリウム）のグラム陽性物質とムツフ顆粒とは同一物ではない。

第2報 動物組織内の結核菌。

(1) 既報に依つて体外、培養基上に於ける結核菌及び類似のミコバクテリウム⁽¹⁾の發育様式並にそれに伴ふ形態、染色性の推移、変化を概略明らかにした。而てその際略痰、膿、尿等の材料中の結核菌の形態、染色性、配列をも亦同時に検討し、それに依つて是等の材料の由來する組織中に於ても亦、体外培養基上に於けると略々同様の様式に従つて發育する事を推測した。併乍ら是等の材料中に出現する結核菌は言ふ迄もなく空洞壁或は潰瘍面に集落性に發育、増殖したところの、言ひ換へるならば、培養基上に於けると近似な條件の中に發育した結核菌に由來するのではないかと推察せられる。斯様に推察する時は、是等の材料の觀察のみに立脚して組織内に於ける發育様式の全般を推断する事は些か早計に失する憾ひがある。此点を補ひ且つ確め度いと考へて下記の如き觀察を行つた。

その結果は、基本的な發育様式は既報の体外、培養基上のそれと何等差異のないものであるが、唯組織特に乾酪竈内に於ては、發芽後の分節即ち抗酸性形の崩壊が稍々容易に起ると云ふ点が、体外、培養基上に於けると異なる事を知つた。そして此事が從來組織特に乾酪竈内のコッホ桿菌の染色、証明を著しく困難ならしめてゐたのであると云ふ事が判明した。而もコッホ桿菌の証明出來難い様な乾酪竈に於ても、上記の如き染色法（チール、ハイデンハイン法）に依れば、非抗酸性形は尙且つ染色、証明出来るのであつて、此様な一連の觀察は結核菌非抗酸性形が發育力を持ち、抗酸性形（コッホ桿菌）は既に發育力を失つた、変性した形態であるに過ぎないとする私の見方、考へ方に、有力な支持を與へる。此処では先づ感染動物の組織特に乾酪竈内の結核菌に就て検討した結果を述べる。

1. 研究方法並に材料。

1) 染色方法。既に第1報に記述したチール、ハイデンハイン法を用いた。因みに此染色法には稍々薄い塗抹標本及び出来るだけ薄く切つた切片標本が適する。尙同時に塗抹標本にはチール、ネールゼン法を、又切片標本には通常のヘマトキシリン、エオジン染色法を施したものを対照として觀察した。

塗抹標本の場合。

載物硝子上に置いた1滴の食塩水中に組織を圧潰し、薄く拵げて後、孵卵器内に傾斜放置して乾燥せしめる。火焰固定（稍々強く）——石炭酸フクシン加温染色2分間——3%塩酸酒精脱色10秒間——水洗——1%鉄明バン15時間——水洗——1%ヘマトキシリン5時間——水洗——2%次で1%鉄明バン弁色数分間——水洗——乾燥。

1%ヘマトキシリン液。

ヘマトキシリン1gを無水酒精10ccに溶解し、蒸溜水を加へて100ccとする。作成後3,4日後から2週間迄のものを使用する。

切片標本の場合。

石炭酸フクシン37度2時間（或は加温5分間）1%——塩酸酒精10秒間——70%酒精1分間——水洗——1%鉄明バン15時間——水洗——1%ヘマトキシリン5時間——水洗——2%次で1%鉄明バン弁色数分間——水洗——濾紙にて乾燥——無水酒精2,3秒間——クレオソート、キシロール次でキシロール——バルサムにて封する。

2. 實驗成績（圖示省略）。

（1）人型菌F株皮下接種モルモット。

イ、接種局処皮下組織。 塗抹標本、切片標本の何れに於ても大小の菌集落を多数に認め、且つ赤染した抗酸性形と影の形に添ふ如く それに寄り添ふヘマトキシリンに黒染した非抗酸性形を 常に見る事が出来、又経過を追つて兩種形態の消長を窺ふ事が出来る。 併乍ら何分にも皮下乾酪竈には最初に注入せられた大量の菌体が存在するから、又その上に3週前後に到れば瘻孔を形成して、乾酪物質を自然に、乃至は剖検、組織の摘出に際して失ふ憂ひもあるから、局処組織中の結核菌の消長とそれに伴ふ組織変化の推移を追求するに好適な材料とは言へない。

ロ、局処淋巴腺。 局処皮下組織に反して局処淋巴腺に於ては、接種後に侵入した少量の結核菌が、其後の経過に於て徐々に發育増殖し、それに伴つて組織も漸次反應して、遂には乾酪化し、又後には菌の減少とともに再び治癒の傾向を示すから、本実験の如き目的には最も好適な材料である。

先づ塗抹標本の100視野中に見出す結核菌非抗酸性形及び抗酸性形（コッホ桿菌）の数を経過を追つて表示すると第1表の如くである。

第1表 局処淋巴腺 100 視野中の菌数（F株接種）

	1 週	2 週	3 週	5 週	9 週	13週	20週
抗 酸 性 形	2	51	37	843	38	4	0
非 抗 酸 性 形	3	7	16	415	56	17	0

局処淋巴腺の侵入した結核菌（F株）の發育は概略5週前後に最も旺盛である。發育の極期に達する迄の時期には抗酸性形の数が常に非抗酸性形のそれを凌駕する。併乍ら此期を過ぎると抗酸性形、非抗酸性形ともに稍々急激に減少するが、就中抗酸性形の減少は顯著であつて、その数の関係は上記とは逆と成つて、非抗酸性形が抗酸性形を凌ぐ。13週前後に到れば非抗酸性形は検出が未だ特別困難であると言ふ程稀少でないにも拘はらず、抗酸性形を検出する事は著しく困難である。尙此際注意すべき事は、抗酸性形の急に減少する9週前後に於ては、抗酸性滴狀物を稍々多量に包含した変性乃至壊死白血球を往々見出し、13週後に於ても尙少数を見出す事である。

今菌体の形態、染色性及び配列等の点に少しく触れるならば、1週後に於ては、抗酸性形、非抗酸性形ともに短小であるが、2週後には稍々長さを増し、3乃至4時には5ミクロンに達するものを見る。3乃至5週後には更に長大と成り、4乃至5ミクロン、時には更に長いものを見る。屢々鎖狀に連つて現はれ、且つ非抗酸性の發芽形を見る事が容易である。9週後の所見は概略5週後のそれに類似するが、上記の如く壊死白血球中に往々抗酸性滴狀物を見出す。13週後に到れば、壊死白血球中に抗酸性滴狀物を見出す以外は、極めて稀に淡染陰影狀の抗酸性形を見るに過ぎない。此時期には非抗酸性形も亦稍々短小のものが多く、而も菌体内には濃染する部分と淡染する部分とを區別する事が出来、顆粒狀の構造を示す事が多い。

今是を切片標本に就て見るに、菌数の増加の著しい5週前後に淋巴腺の変化も亦最も顯著である。当初島嶼狀に散在した中心部白血球から成る小結節は次第に大形となり、此期に到れば可成り廣い壊死竈が淋巴腺内に点々と見られ、その間隙は無数の白血球及び單核性細胞で埋められてゐる。結核菌は壊死竈にも見出されるが、その周辺に蟄集する白血球中に見る事が多い。即ち菌の發育、増殖の最も旺盛な時期に、即ち抗酸性形、非抗酸性形ともに最も多数の時期に相当して白血球反應が最も顯著である。此期を過ぎると、壊死竈周辺から類上皮細胞が滲潤し、又結合組織細胞の増殖が目立ち、壊死竈周辺に見出される菌も抗酸性形は稀少と成り、非抗酸性形のみが少数残る。即ち抗酸性形が次第に姿を消し、抗酸性滴狀物が見出される時期に相当して類上皮細胞及び結合組織細胞の増殖が顯著と成る。尙20週後の塗抹標本中には細胞要素も少く、菌を見出す事も亦出来なかつたが、同切片標本に於ては、

殆んど線維化した結節中に幸にして短小な非抗酸性形を極少数乍ら見出す事が出来た。即ち非抗酸性形は組織が治癒傾向を強く示す様に成つても、少数乍ら最後迄組織内に残存する事を明らかにする事が出来た。

ハ、肺、脾、肝。 内臓に於ける変化は粟粒結節の形成であつて、脾に多く、肺、肝の順序に少く成る。早期から類上皮細胞結節の像を呈するが、その中心には変性乃至壊死白血球を多少とも包藏し時に此様な白血球中に短小な非抗酸性形と抗酸性滴狀物とを見る場合がある。何れにしても是等の結節は大形の乾酪竈に進展する事はないが、13乃至20週後の増殖性の結節の中心に尙且つ少数乍ら短小な非抗酸性形を見出す場合があるのは興味深い。

2. BCG皮下接種モルモット。

イ、接種局処皮下組織。 接種局処皮下組織は上記F株接種の場合と略々同様である。唯此場合は接種菌量が多い関係もあつて、急速に乾酪化し、その中には極めて大量の菌を包藏する。菌は多くの場合大小の集落を爲して壊死竈中に散在し、又壊死竈周辺の変性白血球中に粗な小集落を爲して存在する。何れの場合にも抗酸性形と非抗酸性形とが常に寄り添ふ様にして共存し、鎖狀に連り、又短い束狀に配列する。上記F株の場合と同様に抗酸性形、非抗酸性形はそれぞれ興味ある消長を辿り、それと並行して組織の反應も亦、白血球性反應から増殖性の反應へと推移する。併乍ら上記F株の場合と同じ理由で、此場合も局処皮下組織は此実験の様な目的には好適ではない。

ロ、局処淋巴腺。 概略上記F株の場合に類似するが、先づ塗抹標本100視野中の菌数を経過を追つて表示すれば、第2表の如くである。

第2表 局処淋巴腺 100 視野中の菌数 (BCG接種)

	1 週	2 週	3 週	5 週	9 週	13週	20週
抗 酸 性 形	3	24	126	10	2	0	0
非 抗 酸 性 形	4	2	1,558	178	102	0	0

BCGの局処淋巴腺内での發育、増殖は上記F株よりも速かであつて、概略3週前後に最も旺盛である……実際にはもう少し早期の様である。發育の極期に達する迄の時期には抗酸性形の数が非抗酸性形のそれを凌駕し、極期を過ぎると菌数は目立つて減少するが、就中抗酸性形は際立つて減じ、5週後には非抗酸性形の数の17分の1、9週後には更に50分の1内外と成り、その検出は著しく困難である。丁度此時期に一致して、壊死乃至変性白血球中に抗酸性滴狀物の集團を容易に見出す。即ち3週後に最も多く、次で5週後に多く、9週後には少くなる。

今菌体の形態、染色性並に配列を見るに、1乃至2週後には抗酸性形、非抗酸性形ともに短小なものが多く、3週後には長大なものが多く成り、4乃至5ミクロン、時には更に長い形を見る事も可能である。同時に非抗酸性形に就ては発芽形を見る事が容易である。5乃至9週と経過するに伴れて、菌は再び短小なものが多く成り、抗酸性形は稀に見出すことがあつても、淡染して陰影狀であり、非抗酸性形はその内部に顆粒狀構造を見せる。

切片標本の所見も亦概略上記F株接種の場合に類似するが、淋巴腺が廣く乾酪化する事も、又その後の増殖性の組織反應もともにF株接種の場合よりは2,3週宛速かに推移する。BCGの發育の極期に即ち3週前後に淋巴腺の壊死は最も廣汎に起り、後抗酸性形が急に減少し、それに代つて抗酸性滴狀物を見る3週後に既に増殖性の組織反應が始り、以後5週、9週と経過するに伴れてにはかに高度と成る。

へ、肺、脾、肝。是等の臓器に於ける変化は上記 F 株接種の場合と同様、粟粒結節の形成であるがその形は小さく、且つ速かに類上皮細胞及び結合組織細胞の増殖を見る。早期類上皮細胞結節の中心に僅かに見出す事の出来る壊死白血球中に短小な非抗酸性形を観察する場合があるが、一般に菌の検出は F 株の場合に比較して困難である。

3. 總括並に考按。

接種局処皮下組織及び内臓に於ける菌の消長並に組織変化の推移も亦興味あるものであるが、就中先づ局処淋巴腺に注目し度い。塗抹標本に依つて窺つた淋巴腺内の菌の消長及び切片標本を介して見た組織変化の推移の傾向は、F 株と BCG との間には時間的に多少のずれがある。前者に於ては菌の消長、組織変化の推移はともに緩徐であり、後者に於ては稍々急速に経過し去る。此様な差異はあるとしても、本質的な傾向は兩者相似たものであると言ふ事が出来るであらう。

即ち淋巴腺内に侵入した結核菌は徐々に發育、増殖して、一定週日の後その極期に達する。而て極期に達する迄の時期に於ては抗酸性形の数が常に非抗酸性形のそれを凌駕し、極期を過ぎるとその関係が逆に成ると言ふ点に先づ第 1 に注目し度い。第 2 には抗酸性形の急激に減少する時期に一致して、抗酸性滴狀物が多量に壊死乃至変性白血球中に見出されると言ふ点に注目し度い。第 3 には結節中心の完全壊死に陥つた様な、或は類上皮細胞及び結合組織細胞に埋め盡された様な稍々陳旧な病竈に於ては、抗酸性形を見出す事は極めて困難であるにも拘はらず、非抗酸性形は尙或程度容易に検出し得ると言ふ点に注目し度い。第 4 に注目し度いのは、抗酸性形及び非抗酸性形の消長と組織反應の推移との間に關聯が見出される点である。菌増殖の旺盛な時期に一致して組織には白血球性反應が強く、抗酸性形が急に減少して抗酸性滴狀物が出現すると前後して、病竈には増殖性の反應が強く成る点である。

後述人の組織材料の検討を待つて、詳細考按し度いと考へるが、上述の所見は私に次の様な考按を強ひる。感受性ある動物の組織内に侵入した結核菌は徐々に發育、増殖して、一定週日の後に増殖の極期に達する。極期に達して後は、菌は急に減少し始める。此様な菌の急激な減少の機轉は因より複雑であらうが、就中白血球との關聯を重要視しなければならない。何故なれば、菌は常に崩壊した白血球から成るところの壊死竈に在るか、乃至はそれを取囲む変性白血球中に見出され、且つ菌数の急激な減少は白血球性反應が最高度に成つた時期に招來せられるからである。即ち菌の發育、増殖が旺盛と成る時、白血球性反應も亦高度と成る。そしてその結果は極期に於て白血球の結核菌に対する影響は最も顯著と成ると考へられる。その際抗酸性形はその影響に依つて抗酸性滴狀物に崩壊し、遂には消失するものとせなければならない。併下ら非抗酸性形は比較的その影響に堪へて残存する。白血球の影響は因よりその酵素作用であると考へなければならない。因みに生活細胞は酵素作用に堪へるが死細胞は影響せられ易いと言ふ事は周知の如くであるが、非抗酸性形を發育形とし、抗酸性形はそれが發芽後に変性した形に過ぎないとする私の見方、考へ方は上述の所見からも裏書きせられる様である。それでは結核菌の發育が極期に達する迄の経過に於ては、何故に組織内には非抗酸性形よりも抗酸性形をより多く見出すか。是は恐らくは菌の發育が速かであり、發育の結果として抗酸性形が続々と作られて行く割合には、未だ白血球性反應が從つてその抗酸性形に対する働きかけが顯著でないのに因るのではないかと考へられる。人工培養基上に發育した結核菌を見るならば、此事は自明であつて、特別な酵素其他の影響の無い環境に於ては、發芽後に変性して生じた抗酸性形は容易に顆粒に崩壊し、消失する事はない。

結核に於ける組織変化の一次的、本質的なものは白血球性反應であつて、類上皮細胞其他遅れて起る増殖性の組織反應はむしろ二次的な從屬的な変化であるとする主張があるが (Huebschmann, 武内⁽⁴⁾⁽⁵⁾)

其他)、私も亦此考へ方に賛し度い。何んとなれば、白血球性反應は結核菌の發育の旺盛な時期に主として觀察せられ、従つて私の考へ方からすれば、非抗酸性形の發育と直接關聯すると判斷せられるのに対して、遅れて出現する類上皮細胞其他の増殖性の反應は發育の極期を過ぎて抗酸性形が滴狀物に崩壊し、次でその姿を没する時期に一致して高度と成るからである。即ち是等の増殖性の組織反應は抗酸性形の崩壊によつて組織内に游離した物質……勿論單一な物質ではないであらうが……に対する組織の反應であると考へ得る。化学的な方法で抽出した結核菌の組成分に対する組織の反應を吟味した⁽⁶⁾ Sabin 及び其門下並に其後の多数研究者の實驗を此際参照するならば、誠に興味深いものがある。勿論是等の分析的研究に供せられた結核菌材料は抗酸性形及び非抗酸性形を混合する材料である事を一應顧慮しなければならないが、脱脂菌体或は蛋白性分割は主として白血球性反應を惹起し、磷脂質或は蠟脂質分割は主として類上皮細胞其他の増殖性の反應を惹起する事を此處で参照するならば、上述の様な私の見方、考へ方が誤りでない事を信ぜしめる。

第3報 人の組織内の結核菌。

第2報に於ては、結核菌を皮下に感染せしめた動物の組織特に局處淋巴腺内に於ける結核菌の抗酸性形及び非抗酸性形の消長を追求し、又同時にそれと組織變化の推移との關聯を考察し、2,3興味ある事實を窺知する事が出来た。

人の組織に於ては感染動物の組織の如く、経過を追つて觀察する事を許されない不利はあるが、併乍ら他方動物組織とは比較にならない程長い年月を経過した病竈を、又時には成立の時期を異にする新旧種々の段階の病變を1個の組織片中に觀察出来る興味がある。

1. 研究方法及び材料。

(1) 組織。手術或は剖檢に依つて摘出した9例11個の組織片であつて、なるべく孤立した陳旧病竈を有すると思はれるものを選びて供試した。型の如く10% フォルマリン水に固定して、パラフィン切片とした外、尙新鮮な材料6例は同時にその一部分から塗抹標本を作つた。

尙鼠癩菌に感染した白鼠の皮下組織を参考の爲め上記同様にして切片標本とした。

(2) 膿。骨結核症の膿汁であつて、穿刺に依つて無菌的に採集した8例を供試した。載物硝子上に1滴の食塩水を置き、その中に膿の1滴を混じ、塗抹が厚く成らない様にする爲めに、載物硝子を傾斜して放置、乾燥せしめた。一部新鮮な材料は、何等前処置を加へることなしに、その一白金耳宛を卵培養基2本宛に移し、培養した。培養基としては我々の研究室で慣用してゐる上坂、友田培養基⁽⁷⁾ (但し寒天を使用せず)を用ひた。

(3) 染色法。第2報と同様、塗抹標本及び切片標本のそれぞれに就て、結核菌の抗酸性形と非抗酸性形とを同時に觀察出来る様に考案したチール、ハイデンハイン法を用ひた。同時に塗抹標本にはチール、ネールゼン法を、又切片標本には通常のヘマトキシリン、エオジン法を施したものを対照して觀察した。

[剖檢或は手術材料を分與せられた京都大学医学部泌尿器科学教室稻田助教授、同外科学教室白羽講師、同整形外科学教室山田講師及び結核研究所病理学部家森助教授に深謝する。]

2. 實驗成績 (圖示省略)。

(1) 組織。

- a. 頸部淋巴腺。 27才女子、両側頸部淋巴腺結核症、手術によつて摘出、左側のサン豆大1個。

- b. 腎 臓。 31才男子、左側腎臓結核症、手術によつて摘出、実質中に孤立した豌豆大結節、硬。
- c. 腸間膜淋巴腺。 2才5月男児、粟粒結核症、剖検によつて摘出、小豆大、稍硬。
- d. 足跟骨限局竈。 2才女児、左足関節結核、手術によつて摘出。
- e. 同 上。 25才男子、左足関節及膝関節結核、手術によつて摘出。
- f. 側気管淋巴腺。 1才10月男児、粟粒結核症、剖検によつて摘出、豌豆大、硬。
- g. 肺 臓。 30才女子、青酸加里中毒（自殺）、右上葉の陳旧病竈とその周周変化、剖検によつて摘出。
- h. 同 上。 41才男子、肺結核症、左上葉空洞形成、右上葉陳旧病竈、右全葉に撒布竈、剖検によつて摘出。
- i. 肺臓、気管支淋巴腺。 4才男児、麻疹、右中葉の初感染竈と撒布竈、所属気管支淋巴腺、剖検によつて摘出。
- j. 鼠 癩 組 織。 鼠癩菌福岡1号株皮下接種6ヶ月後の白鼠の皮下肉芽組織。

先づ上記組織の塗抹標本100視野中の結核菌数を表示すれば第1表の如くである。

第1表 組織塗抹標本 100視野中の菌数

組 織	抗 酸 性 形	非 抗 酸 性 形
a. 頸 部 淋 巴 腺	1	5
b. 腎 臓	0	2
c. 腸 間 膜 淋 巴 腺	0	3
d. 足 跟 骨	0	4
e. 同 上	1	8
f. 側 氣 管 腺	1	3

即ち抗酸性形は検出しないか、仮令検出し得ても極めて少数であるが、それに対して非抗酸性形は常に抗酸性形よりも多く且つ稍々容易に見出す事が出来る。

次に上記組織の切片標本の所見を概括すれば下記の如くである。組織個々に就て常に一樣であるとは言へないが、殆んど無構造に近い、乃至は僅かに核破片の散在する様な壊死竈では、一般に信じられてゐる様に抗酸性形を見出さない。併乍ら此様な病竈でも、その周縁に壊死白血球から成る薄層が残存する時は、其処に少数乍ら非抗酸性形を見出す場合がある。類上皮細胞、結合組織細胞に埋め盡された様な増殖性の病竈も亦同様であるが、若し是等の細胞の間隙に多少とも壊死白血球が散在する様な場合は、是等の白血球に寄り添ふ様にして、稀に短小な非抗酸性形が見出される場合がある。

是等の組織中就中興味があると思はれた2例に就て記載すれば次の如くである。

g. 肺臓（30才女子、中毒死、右上葉の陳旧病竈とその周囲変化、剖検に依つて摘出）

右上葉に小気管枝腔を満したものと考へられる稍々大形な長円形の乾酪竈1個、それに接して小円形乾酪竈3個がある。いづれも内容は完全壊死に陥つて殆んど核影を認めず、固縁は稍々厚い結合組織に被包せられ、且つ周囲組織に著しい細胞反應がなく、陳旧な二次結核症と判断せられる。唯大形な長円形の乾酪竈の一極に於て、結合組織被膜が稍々粗造と成つて乱れ、その部分から周囲組織中に多数の単核性細胞が滲潤し、少数の壊死白血球を混じる。更にその外周には類上皮細胞層があり、時に巨細胞を見出す。即ち陳旧乾酪竈がその一極に於て再燃し、稍々時日を経過したものと判断せられる。

単核性細胞及び類上皮細胞の層中には抗酸性形、非抗酸性形の何れをも見出さないが、乾酪竈中再燃竈に近い部分に数ケの非抗酸性形が散在するのを見出す。大さは3ミクロン内外であるが、より長い形のものを亦混じる。

h. 肺臓(41才男子、肺結核症、左上葉空洞形成、右上葉陳旧病竈、右全葉に撒布竈、剖検によつて摘出)右上葉に可成り厚い纖維性被膜を持つた小円形乾酪竈がある。周囲組織中には多少結合組織細胞の増殖、単核性細胞の游走を見る。上記被包乾酪竈の内容は殆んど無構造に近く、小形の核破片が散在する。因より抗酸性形を見出さないが、注意深く観察する事によつて稀に2,3個の非抗酸性形を見出し得る。上記陳旧乾酪竈から少し離れて、中心部殆んど無構造に近く、僅かに核破片散在し、周縁を壊死乃至変性白血球で圍繞せられた壊死竈がある。比較的新しい撒布竈と判断せられる。その中心部僅かに核破片の散在する部分には少数の非抗酸性形を見出すに過ぎないが、周縁の壊死乃至変性白血球の増集する層には多数の抗酸性形とそれよりは少々少い非抗酸性形とを見出す。是等は孤立して或は小集落性に白血球内部に或はその間隙に見出される。

j 鼠癩組織。大形な、密な、円形乃至長円形の菌集落が相接して模様の如く配列する。集落の一端には殆んど常に少々大形、淡染する核を認める点から、菌集落は細胞を満したものである事を知る。斯様な密な菌集落に於ては、密接する赤染桿状形の間に、略々その数に比敵する黒染した1乃至2ミクロンの非抗酸性形を見出す。

(2) 膿。

脊椎カリエスの流注膿瘍から得たもの5例、関節腔から得たもの3例、計8例であつて、それぞれ塗抹標本の100視野中に見出した菌数、及びそれぞれの材料の一白金耳を卵培養基2本宛に移して、2ヶ月後に数へた發育集落数は第2表の如くである。

第2表 外科的結核症の膿 100視野中の菌数

患者名	診断	抗酸性形	非抗酸性形	集落数
K. N.	脊椎カリエス	0	10	{ 158 154
N. Y.	〃	3	5	{ 93 91
T. O.	〃	0	0	{ 4 1
M. T.	〃	2	21	{ 218 170
K. I.	〃	2	4	{ 23 16
T. U.	足関節結核	0	6	{ 82 65
H. T.	膝関節結核	0	0	{ 0 0
K. A.	股関節結核	0	1	{ 45 49

抗酸性形は検出出来ないか、出来ても稀少であるが、之に反して非抗酸性形はより多数例に於て、且つより容易に検出出来る。而して發育集落数を見るに、その数は意外に多く、従つて抗酸性形よりは非抗酸性形との關聯を推測せしめる。

3. 總括並に考按。

人の組織材料を供試した此の実験に依て、動物組織を供試した第2報の実験の所見とそれに立脚する考察とを確認する事が出来た。

(1) 陳旧な被包乾酪竈内には結核抗菌酸性形を見出さない。併乍ら仮令その数は少くとも非抗酸性形を見出す事は出来る。特に上記 g. h 等の所見は示唆に富む興味あるものと考へる。

(2) 上記 g. に見た如く、陳旧病竈が再燃し、拡大して生じたと判断せられる稍々新しい壊死竈、或は h の如く轉移に因ると考へられる比較的新しい壊死竈に於ては、壊死が進行して僅かに核片が散在するに過ぎない中心部には間々非抗酸性形を見出すが、抗酸性形を見ない。然るにその周縁の壊死乃至変性白血球の蝟集する新しい炎症竈に於ては、稍々多数の抗酸性形とそれに寄り添ふ如くに在る少数の非抗酸性形とが、散在性に或は小集落をなして出現する。即ち感染動物の組織を経過を追つて觀察して初めて確め得た組織中に於ける抗酸性形及び非抗酸性形の消長の模様を、此処では1枚の標本中に觀察出来た訳である。兩種形態の上記の如き消長と組織変化の推移との關聯をも亦同時に確認する事が出来た。

(3) 第2及び第3報によつて結核菌の体内、組織内に於ける發育様式の概様を窺ふ事が出来たかと考へるが、それは既報の体外、培養基上の發育様式と別段相違するものではない。唯体内、組織内で顯著な事は、組織の白血球性反應次で乾酪変性の過程と密接に關聯して、抗酸性形の崩壊が稍々容易に招來せられると云ふ点である。

(4) 陳旧な乾酪竈中に抗酸性形を見出し得ないのは、上述の様な事情に因る。併乍ら此様にして抗酸性形を証明しない陳旧病竈中にも尙且つ少数乍ら非抗酸性形は残存するのであるから、斯様な陳旧病竈の再燃する可能性は当然考へられるのであつて、此点陳旧な乾酪化乃至は石灰化竈中に潜在する生きた結核菌を、動物接種の方法で多数例に就て檢索した⁽⁸⁾ Schmitz, ⁽⁹⁾ Rabinowitsch, ⁽¹⁰⁾ Wegelin, ⁽¹¹⁾ Opie a, ⁽¹²⁾ Anderson, ⁽¹³⁾ Schrador 等の数字は充分肯けるものである。又上掲の如く外科的結核症の膿に於ては、抗酸性形は証明しないか、仮令証明しても稀少である。即ちそれを培養する時に得られる稍々多数の集落と對比する時、そこには著しい不一致があるかの如く想はれるが、膿中に同時に可成りの数の非抗酸性形を檢出出来る事を知れば、上述の事は格別奇異とするには当らない。是等の点に關聯して⁽²⁾ 膿部は被包乾酪竈が再燃する場合、そこに抗酸性形が急に増加するのを見て、此多数の抗酸性形は恐らくは乾酪竈中に潜在した結核菌の不可視形に由來するのではないかと憶測した。併乍ら此憶測の当らない事は、上述の如く陳旧病竈中に尙且つ少数乍ら非抗酸性形が見出される事から明らかである。

(5) ⁽¹³⁾ Canetti は多数例の組織材料を供試し、その一半を染色標本とし、そこに見出される抗酸性形(コッホ桿菌)の数と、他半を培養して得る集落数とを比較対照して考察した。染色菌体数に比較して發育集落数が著しく少いと云ふ事実から、組織内に見出される抗酸性形(コッホ桿菌)の大多数は死菌であるのではないかと推断した。上述の私の觀察と關聯せしめて考へる時、此 Canetti の觀察は暗示的な興味あるものであるが、何故今一步を進めて、抗酸性形の総てを死菌であるとして、他に發育力を持つた形態的要素を探索しなかつたかが惜まれる。又上記とは逆の結果を得た場合、即ち染色菌体(抗酸性)が少く、集落数が却つて多い場合に就て考察を缺く点も亦不備である。何れ他の機会に詳細發表し度いと思ふが、從來殆んど何の顧慮もなく培養に利用せられてゐる5乃至10% 硫酸による前処置は、実は結核菌に対して著しい影響を及ぼす事が判明したから、上記 Canetti の實驗に於ては此事も亦關係すると考へられる。尙上記膿の培養に際して何等の前処置を加へず、膿を直接培養基に移したのも亦、上述の様な理由からである。

(6) 鼠癩組織の塗抹標本をチール、ネールゼン法で染色、⁽¹⁾ 觀察した所見に就ては既に報告した。即ち一見抗酸性形のみから成立つかの如く見える集落中に、注意して觀察すれば略々同数の非抗酸性形が混在する事を明らかにした。今回は鼠癩組織の切片標本をチール、ハイデンハイン法で染色したのであるが、前回同様菌集落は決して抗酸性形のみから成立つものではなく、略々同数の抗酸性形及

び非抗酸性形から成る事を再確認する事が出来た。唯組織中の鼠瀬菌を観察して、それを上述結核菌の所見と比較対照する時、先づ顯著に相違する点は瀬菌に於ては組織内で抗酸性形の崩壊が起り難いと云ふ点である。此事から直ぐ考へられる事は、発芽は常にそこに存在する抗酸性形を支持体としてそれに寄り添つて發育出来る訳であつて、その結果があのような多数の密な構造の集落を組織内に形成するに到るのではなからうか。

〔本研究に対して文部省科学研究費の補助を得た事を深謝する。〕

文 献

- (1) 植 田 三 郎, 日本医学及健康保険 3319号 9頁 (昭和18年)
同 3323号 5頁 (同 年)
日 本 医 学 3423号 16頁 (同 23年)
東 京 医 事 新 法 66巻 8号 10頁 (同 24年)
- (2) 隈 部 英 雄, 人体内に於ける結核菌の生態 (同 24年)
- (3) 大 岩 弘 治, 日本細菌学雑誌 (近刊) (同 25年)
- (4) Huebschmann, P., Path. Anat. d. Tuberk., (1928)
- (5) 武 内 清, 医事公論 1600号 4頁 (昭和18年)
- (6) Sabin-Doan, J. Exp. Med., 46: 645, 1927.
Sabin-Joyner, Ibid., 68: 853, 1938.
- (7) 上 坂 友 田, 日本医学及健康保険 3311号 17頁 (昭和17年)
結 核 研 究 1 巻 3号 244頁 (同 18年)
- (8) Schmitz, Frankfurt. Z. Path., 3: 88, 1909.
- (9) Rabinowitsch, L., Z. Tuberk., 15: 217, 1910,
- (10) Wegelin, Korresp. Schweiz. Aerzte, 1910, s. 913.
- (11) Opie a. Anderson, Arch. Path. a. Laborat. Med., 4: 1, 1927.
- (12) Schrader, G., Virchow's Archiv, 269: 355, 1928.
- (13) Canetti, G., Rev. d. l. Tuberc., 10: 26, 1946.

此報告の要旨は東京医事新誌66巻11号 (昭和24年) 67巻1号、同2号 (昭和25年) に発表した。

Nocardiaの抗菌性に関する研究

上 坂 一 郎

(第1報) 抗菌性 Actinomycetales の分離。

全国各地の土壤試料 143 個から改変 Czapek 寒天培地を用ひ、Actinomycetales の分離を行い、303株を分離した。土壤試料としては肥沃土を用ひる方が、瘦土を用ひるよりも明かに、分離せられる Actinomycetales の数が多く、且抗菌性を有する菌の割合も多い。分離した Actinomycetales の諸種病原細菌に対する抗菌性を改変 streak plate method にて検し、40株の抗菌性 Actinomycetales