

主 要 文 献

- 1) Dostal, W. kl. W. nr. 36, 1919 ; nr. 12, 13, 1913 : nr. 27, 1913
- 2) 有馬等, 佐多博士在職25周年紀念論文集 大正9
- 3) Gildmeister, Zbl. f. Bakt., Bd. 89, 154, 1923
- 4) Schnürer, Zbl. f. Bakt., Bd. 89, 150, 1923
- 5) Paltrauf, Zbl. f. Bakt., Bd. 89, 154, 1923
- 6) 矢部, 結核 2巻 201頁 大正13
- 7) Kirchner, Beitr. Klin. d. Tbk., 70 : 1928
- 8) 箭頭, 日本微生物学雑誌 26巻 7号 昭和7
- 9) 中川等, 東京医事新誌 2862号 1頁 昭和9
- 10) Burger, Zschr. f. Tbk., Bd. 51, 1928
- 11) 飯島, 東北医学雑誌 17巻 昭和10
- 12) 植田・井堤・新川, 関西医事新誌 第403号 3頁, 404号 3頁 昭和13
- 13) 占部, 満洲医学雑誌 25巻 2号 昭和11
- 14) 竹内, 東京医事雑誌 66巻 1号 7頁, 66巻 10号 10頁, 66巻 11号 14頁 昭和24
- 15) 竹内・米沢, 結核 24巻 3号 25頁 昭和24, 7-8合併号 222頁 昭和24
- 16) 長谷川, 結核の化学療法に関する研究 95頁 昭和17
- 17) 山田・岡田, 結核研究 7巻 1号 5頁 昭和26, 結核 (27巻 2号) 昭和27
- 18) 山田, 結核研究所年報 昭和26

非病原性 *Mycobacterium* の形態及び発育様式

(附) その分類学的考察

京都大学結核研究所細菌血清学部 (主任 植田 教授)

伊 藤 義 昭

緒 言

結核菌或は癩菌の研究に従事する研究者に依つて自然界の非病原性の *Mycobacterium* の存在が注意せられ, 此種類の菌についての知見が深められた。しかしこの自然界 *Mycobacterium* と呼ばれるものの中には多くの菌種が含まれて居るであろうことを示すのみで, 分類学上の確かな拠り処をつかむには到つて居ない。我國に於ても亦培養性状, 発育可能温度等を拠りどころとして種別が試みられたが矢張り同様である。⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾

最近中村等は菌の配列状態を拠りどころとして種別を試み, *Streptothrix* 型, *Mycobacterium* 型, *Corynebacterium* 型, 及び真正細菌型の4型に分けた。⁽⁴⁾ 私は植田の結核菌の発育様式に関する研究に倣ひ, 発育初期の菌に就て, 発育に伴ふ形態, 染色性の推移, 及び配列を観察し, それから発育様式を判断し, 更に進むでそれらの観察及び判断に立つて此種の菌の分類を試みた。⁽⁵⁾

(供試菌株)

細菌血清学部保存の唾液に由来する2株及びスメグマ株, 土壌より分離した24株, 兎糞, 鶏糞, 落葉等より分離し

た11株、計38株である。保存菌株以外は Söhngen 変法⁽¹⁾（植田）によつて新しく分離培養した。

実験方法

（1）結核菌用卵培養基（上坂、友田）⁽⁶⁾、普通寒天及びキルヒナー培地（3%血清加）に37°C、10日内外培養して先づ固形培地及び液体培地に於ける性状を観察した。

（2）更にキルヒナー培地をスピッツ・グラスに入れ、その管壁でよく菌をすり潰し、出来る限り均等な菌液を作成し、2000廻轉、5分間遠心沈澱し、粗大な菌塊を除き、上澄菌液の1滴を毛細ピペットで滅菌オブジェクトグラスに滴下し、薄い液膜になる様に餘分の菌液を吸取り⁽⁷⁾湿室内に納めて、37°Cに培養した。15時間、1、2、3、4日（菌株によつては更に7日）後にオブジェクトを湿室から取出し、乾燥固定し、Ziehl-Neelsen染色（チール液加温染色2分、3%塩酸酒精脱色15秒、メチレン青液後染色3分）をして検鏡した。このような方法によれば發育初期の菌の配列をそのまゝみることが出来、發育様式の考察も亦容易である。

（3）菌種によつては同時にキルヒナー培養基上の發育初期菌膜から貼布標本をも亦作成し検鏡した。⁽⁵⁾

成績

尙不分明な点が多少残されてゐるが大体下記の様に大別出来るかと考へる。

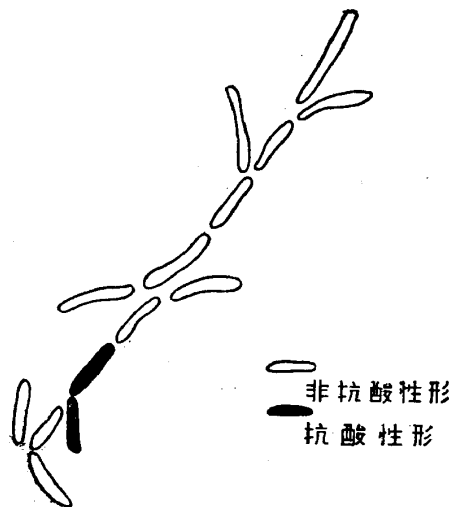
第Ⅰ群 明らかに分節、発芽によつて發育し、結核菌に近い形態、配列を示す。I a I b I c……22株

第Ⅱ群 *Corynebacterium* に近い形態、酒列を示す。I a I b……←3株

第Ⅲ群 *Streptomyces* 又は *Nocardia* に近い形態、配列を示す。←11株

尙被檢菌種中には上記いづれの群に属するか決定困難なものが2株あつた。

第Ⅰ群（22株）發育様式



發育の基本的様式は分節及び発芽であつて、第Ⅰ図の様な像を示す。既に植田がスメグマ菌に就て明らかにした如く、或る分節の末端とそれに続く分節の前端とからそれぞれ1ヶ宛向ひ合つて併し左右に喰ひ違つて發芽する。因みに發芽は1ヶの分節から1ヶ宛であるから發芽は分節の1つ置きに連接部に於て起り、而も交互に喰ひ違ふ方向を異にする。時にはこの交叉的な發芽が不明瞭な場合もないではないが、上記は特徴的な所見である。一般に發育初期即15時間培養（2）の方法）では菌10ヶ程度の集落では抗酸性形は1~2ヶ又は全然抗酸性形をみない葉落もある。即非抗酸性の長い菌、即糸狀形のみから成る。1~2日後では非抗酸性の糸狀形が菌集束の先端にみられ、菌集束の中央部には悍狀の短かい抗酸性の菌が大多数である。（これが發育の極期と考へられる。）4日後になると悍狀形、時に球狀の短小な抗酸性の菌が多く、非抗酸性は非常に少ない。キルヒナー上の菌膜でも大体同様である。

固形及び液体培養基上の性状。

固形培養基上ではこの群の集落は色調灰白色で非常に古くなると時に肉紅色を帶びて來るものがある。多くの場合濕潤であるが乾燥した感じのものもある。形態は弧立した集落は多く円形で表面平滑、半球狀であるが、集合すると

種々な外觀形態をとる。液体培養基では表面、深部共に發育するが濁濁を來たすものはない。表面菌膜は1~2日で既に明瞭にみとめられる。

この群の菌を更に結核菌にみられる様な菌集束（勿論人型菌ほど著明ではないが）を形成する傾向の強弱の点から強いて分けるならば

Ⅰa型 菌集束形成の少々著明なもの。

Ⅰb型 多少菌集束を形成するがⅠaに比し弱く、多くの場合「イガグリ」状を示すもの。

Ⅰc型 菌集束の形成が殆んどみられないもの。

上記の種別は勿論比較的のものであつて、移行型が屢々みられる。われわれの研究室に保存するスメグマ菌は發育が少々遅いこと、固形培養基上の性狀が多少異なる以外は上記の菌株によく類似し、Ⅰb或はⅠaに入れるべきものかと考へる。

第Ⅰ群（3株）發育様式



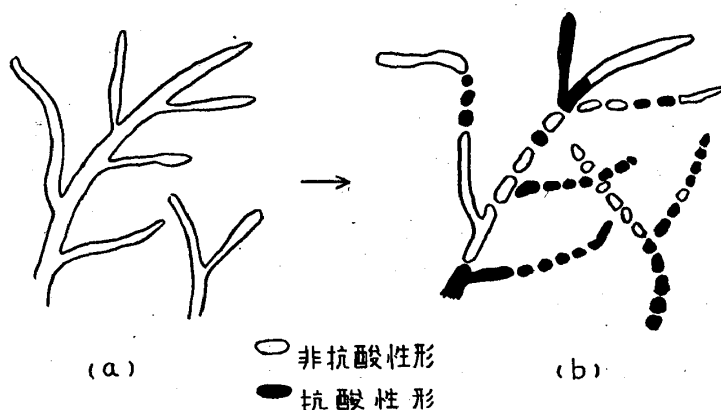
この群も亦発芽によつて發育するものの如くであるが、發育様式は未だ充分に明らかにし得ない。配列は特有で開指狀、M字狀で菌は一端が他端に比して太い。（*Corynebacterium* に近いものであらう。）（第Ⅰ図）しかし初期に非抗酸性形が多く、末期になると抗酸性形が多く成ると共に菌体も短小になる点は第Ⅰ群と同様である。一般にこの群は Ziehl-Neelsen 染色で紫色を示す菌体が多い。3~4日後には寄木細工の様な像を示す。

固形及び液体培養基上の性狀。

固形培養基上では、色調橙黃色、濕潤粘稠で釣菌の時糸を引く、又古くなると水飴狀に斜面から流れ落ちる。液体培養基を濁濁せしめる。この事はこの群にのみみられる性質である。

菌体が發育各期を通じて少々大形（Ⅰa型）なものと小形（Ⅰb型）なものに分けられる。

第Ⅱ群（11株）發育様式。



この群の發育様式は眞の分枝像を示すこと、それが古くなると分節することが特徴的である。抗酸性が非常に弱く發育初期の集落中の菌は総て非抗酸性である。（第Ⅱ図a）しかしキルヒナー上の3~7日の菌膜で長い初期の菌糸が分節狀に染る頃になれば、弱抗酸性乃至は抗酸性に染る菌糸が見られ、（第Ⅱ図b）長短種々の形態が混在する。古く

なると抗酸性の桿状形或は球菌形が多くみられる様になるが、同時に非抗酸性の長短の形も亦見られ、恰も一見雑菌中にミコバクテリウムが混在する様な観を呈する。

固形及び液体培養基上の性状。

固形培養基上では色調は一般に赤褐色、2〜3〜4日後に白粉が菌苔を覆ひ、又培養基を変色し、変形することが多い。液体培養基では一般に菌膜が厚く、褐色に着色する。深部集落は綿屑状のことが多い。

此群に属すると考へられるものの中特に分節の傾向の少ないものが1株あつた。

なお上記何れに属するか判別し難いものの中1株は発育が非常に遅く、橙紅色の粘稠な集落を作り、その配列も亦特有なものがあつた。

考 按

以上未だ明確な事を知ることは出来なかつたが、是等の菌株の発育様式を知るには発育初期から経過を追つて、菌の配列を乳さないやうにして観察することが大切であることを知り得た。在來の如く発育の或る時期の菌をとつて攪拌塗抹して観察する方法では、種々な形態の変化、染色性の推移、配列を窺ふことが不可能である。

第Ⅰ群中の a, b, c の相違は勿論劃然としたものではなく、屢々移行型が見られるか、此區別は培養條件（例へば液の表面と深部との差）、発育速度の差、R型 S型の差等によつて分れる事であるのか乃至は菌株そのものの本來の性質によるのか尙未だ不明である。

第Ⅲ群は、在來自然界ミコバクテリウムに属せしめない研究者が多いが、^(3,8)やはり注意すべき群であると考へて上記の如く一群を設けて類別した。

⁽⁴⁾中村等の群別は液体培養 7日後の菌膜、深部集落の所見に立脚すると云ふのみであつて、その記載から比較同定する事は困難であるが、氏の Streptothrix 型の中一部分は上記Ⅰ群に、又一部分は上記Ⅲ群に属するものではないかと考へる。氏の Mycobacterium 型中結核菌型は上記Ⅰa型に相当するものと考へられる。氏の真正細菌型と言ふものは上記菌株中には見出せなかつた。今後更に多くの菌株について、又より正しく発育様式を窺ひ得る如き方法によつて観察し、分類がなされなければならないと考へるが、上記の試みからその方向をみ出し得たと考へる。

結 論

(1) 自然界ミコバクテリウムの分類は発育初期から経過を追つて観察し、発育様式を確め、それに立脚してなされなければならない。

(2) 特に発育初期集落中の非抗酸性の形、配列に注意し、その後の経過に於けるその染色性の変化（抗酸性）にも亦注意しなければならない。

(3) 未だ充分に分明でない点もあるが、上記の観察からすれば、供試した自然界ミコバクテリウム38菌株は下記の如く三群に類別出来る。

第Ⅰ群 明らかに分類、発芽によつて発育し、結核菌に近い形態、配列を示すものⅠaⅠbⅠc (22株)

第Ⅱ群 コリネバクテリウムに近似の形態、配列を示すものⅡaⅡb (3株)

第Ⅲ群 Streptomyces 又は Nocardia に近似の形態、配列を示すもの (11株)

残り2株は未だ類別困難。

終りに臨み終始御懇篤なる御指導、御校閲を賜つた植田教授に心からの感謝の意を表す。

(文 献)

- 1) 植田, 杉本, 王木: 日本微生物学病理学雑誌 29巻 7号 789頁 及び 29巻 12号 1313頁
- 2) 戸田: 結核菌とBCC 第2版 347頁
- 3) 占部: 福岡医科大学雑誌 29巻 12号 190頁 昭11
- 4) 中村, 奈良: 日新医学 36巻 5号 189頁 昭24
- 5) 植田: 結核菌の研究 (南江堂) 昭26
- 6) 上坂, 友田: 日本医学及健康保険 3311号 17頁 昭17
- 7) 山田, 岡田: 結核研究 7巻 1号 5頁 昭26
- 8) Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 6th Edition 1948