HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	所謂“塗抹陽性培養陰性結核菌”の正体に対する考察
Author(s)	高橋, 義夫
Description	
Citation	結核の研究, 5, 1-10
Issue Date	1956-11
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/26601
Type	departmental bulletin paper
File Information	5_P1-10.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

論　　説

所謂“塗抹陽性培養陰性結核菌”の正体に対する考察*

高　橋　義　夫
北海道大学結核研究所予防部

（昭和31年8月30日受付）

すでに周知の事実であるが，近年結核症における化学療法の急速な進歩に伴い，細菌学的に2つの重要な事実が登場している。それは

1）患者の喀痰中に，直接鏡検では明かに証明できるが，培養では証明できない，所謂“塗抹陽性培養陰性結核菌”の出現頻度が極めて高率になつたこと。

2）培養8乃至15週あるいはそれ以上培養してはじめてコロニーが出現してくるような，所謂“長期培養陽性結核菌”の症例もかなり多くなつたこと．

である。

この注目すべき2つの事実は，しかしながら，近年の化学療法時代になつてはじめて出現してきたものではなく，塗抹陽性培養陰性菌は化学療法時代以前にも8％内外存在していたことは確かである[1]。それが近年，特にINAHの導入以来，急激に上昇して現在では30～40％になつているようである[1]。また長期培養陽性菌にしても，化学療法時代以前になかつたわけではないが，発現率が低かつたために，それらは一応結核菌のdysgonic formとして解釈され特に注目されなかつのであろう。近年になつてこのような菌は如上の解釈ではとうてい理解できないほど高率に出現しているのである。

この2つの現象は，結核の細菌学的診断においては培養法が染色法に優るという従来の概念を根本から覆すもので，そこに今後研究さるべき多くの問題が包含されていることはいうまでもない。でまず発現機序の上から考えてみると，この2つの現象はいずれも化学療法剤の作用の下に顕著にみられるようになつたわけであるから，相互に密接不可分の関係にあるものと想像される。また化学療法剤の作用の点から考えると，とにもかくにも，現在の化学療法剤は，直接あるいは間接に，生体内における結核菌の発育増殖に対してかなりの影響を与えていると解釈して差支えないであろう。

しからば，これら2つの現象は生物学的に如何なる機序によつて発現するのであろうか，単に薬剤による障害によるものであろうか。またこれらの現象は現在の化学療法下における結核症の進展と如何なる関係にあるのであろうか。これらの問題は一方細菌学的生物学的に興味がありかつ重要であるばかりでなく，他方臨床的には結核症の予後の判定，化学療法の限界の確立，外科療法の適応の決定等と直結した重要な研究テーマであることはいうまでもない。

ところで近年これら現象の究明に対して重要な役割を演じているものは，肺結核の外科的療法のために剔出された切除肺材料である。でこれに関する病理細菌学的研究は現在まで，国の内外を問わず，多数発表されているが[2~10]，それらの多くは主として剔出された材料の病理組織学的性状と結核菌の生死を取扱つたもので，それによつて得られた異論のない結論は「閉鎖性病巣殊に被包乾酪巣には塗抹陽性培養陰性菌の出現率が特に高率である」という1つの事実であつて，問題の結核菌の生死および毒力に関してはまだ一定の結論が得られていないようである。

さて，試験管内に取り出された結核菌の生死および毒力は培養および動物実験によつて簡単に検べられるが，直接鏡検では証明できても，培養が陰性結果に終るような所謂塗抹陽性培養陰性菌の生死および毒力を直接検べる適格な方途は，その発見に努力はなされているが[11]，現在のところ先ずない。しかも問題の塗抹陽性培養陰性菌が全部死菌であると断定する根拠もないのである。したがつてこの

* 本考察は望月孝二，永山能為の研究に準據した（結核の研究：3，23，昭31）。

ような場合は間接に想像するより外に現在のところ方法はないわけであるが，間接的方法としてまず第一考えられるものは染色法である。しかしながら現在の段階ではこの目的のための適格な染色法は確立されていない。そこでこの問題の研究のためにまず検討すべきことは，生体内における結核菌の環境条件と結核菌それ自体の形態的生理的変化との関連性であろう。

そもそも人体における結核性病変，特に肺臓内のものは，病理組織学的に極めて多種多型で，かつ程度軽重を異にしていることは今更云々するまでもなく，また他方結核菌は pleomorphic で，それが生存する環境条件のよし悪しによつて，形態，染色性ひいてはその生理的状態に顕著な変化を示すことも周知の事実である。したがつて，肺病巣内における所謂塗抹陽性培養陰性結核菌の研究に当つては，単に生か死かにとどまらず，菌の形態と染色性を充分に考慮に入れる必要があると考える。もし結核病変の種類，程度，軽重と結核菌の形態，染色性の変化および生死の間に何か一貫した関連性があれば，われわれは結核菌の形態および染色上の変化を詳細にしらべることによつて，その結核菌が由来したと思われる病変の種類，程度，軽重をある程度想像することができ，ひいては結核症の進展に対してかなりの判断を下す事ができるのではなかろうか。

以上の観点に立つて，切除肺材料に関する従来の研究報告をしらべてみると，研究者によつて方法は異るが，病巣内の結核菌の追及には皆一様に従来の Zichl-Neelsen 法あるいは螢光法を用い，菌の生死を病巣の病理組織学的所見と比較したものが大部分で，菌の形態および染色性の変化に着目したものは，筆者の知る限りでは，2，3あるに過ぎない。したがつて現在のところ細菌学的には，上に述べたように，「被包乾酪巣には塗抹陽性培養陰性菌が高率に出現する」という1事が異論のない事実として認められているだけで，それ以上の進展をみせていない。

元来，抗酸性は結核菌のもつ重要な性質の1つで，細胞膜，細胞質，各種細胞顆粒をはつきり所有し，やや曲つた桿菌状を呈し，それに抗酸性をもつたものが結核菌の成熟した正常の「型」であると一般には考えられている。しかしながら，抗酸性は結核菌の重要な性質であるといつても必ずしも必然的な性質ではなく，結核菌は，菌型によつてその程度に差はあるが，生存のある「過程」又は「相」においては抗酸性を脱却して非抗酸性となり，メチレンブラウに青染することも一般に認められている事実である。このような非抗酸性青染菌（以下単に青染型と略記）の生物学的意義はいろいろに考えられているが，諸家の研究を通覧すると，この青染型は環境条件あるいは宿主生体と関連して，結核菌の発育増殖の過程に何か特定の役割を演じているだろうことが想像される。したがて結核菌の形態学を研究する場合，特に生体内における形態的変化を追及する場合，この青染型に対しても，従来の抗酸型に対すると同様な考慮が払われてしかるべきであろう。

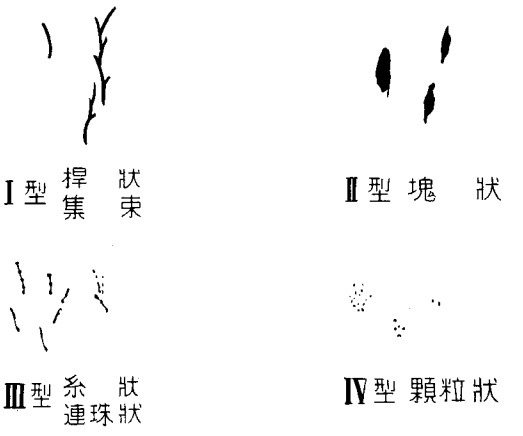
以上は結核菌の染色性についてであるが，ここに問題がもう1つある。それは結核菌は，特に生体内において，極めて顕著な多型性を示し，糸状，連珠状，塊状，顆粒状その他の形態を取ることである。このように変形した結核菌の生物学的意義は現在完全に闡明されているわけではないが，とにもかくにもこのような事実の存在が認められているからには，肺病巣内の菌検索にあたつて，この点にも充分な考慮が払われてしかるべきであろう。

以上の観点に立脚すると，切除肺材料を用いて塗抹陽性培養陰性菌の出現の機序およびその意義を追及するにあたつて，従来の Ziehl-Neelsen 法にのみたよることは妥当でないといえる。というのはこの方法は所謂抗酸菌の発見にはよいが，病的材料中の青染型はもちろん形態変化の細部を示してくれないからである。そこでこの種の研究に対してかなり満足すべき成績を与えてくれる方法は，われわれの研究によれば，Alexander[12, 13] の方法である。そこで本法と従来の Ziehl-Neelsen 法及び最近の Hallberg 法とを併用しながら，切除肺材料中の結核菌の形態および染色上の変化を追及し，これと結核菌の生存力および病巣の種類および性状との間の関連性をしらべてみた。結核菌の培養は本実験においては一先ず従来の小川の方法により1%酸性培地を用いた。

材料及び方法

材料は剖検，肺切除および肺区域切除例から得た 331 の切除肺標本，標本は剖見時あるいは手術直後可及的無菌的に採取，少量の1%苛性ソーダ液で乳液となし，一部を

第1図



1%小川酸性培地を用いて小川法により定量培養，一部を型く如く染色鏡検した。

標本中の結核菌の検索に当つては，前に述べた理由により，桿状または集束状をした通常の形態を呈するものをI型，塊状のものをII型，糸状または連珠状のものをIII型，顆粒状のものをIV型とした（第1図）。形態検索にあたつては，Alexander 法，Ziehl-Neelsen 法，および Hallberg 法のいずれか1つで同じ形態を示す菌は一括して成績に入れた。抗酸型および青染型の染め分けは Alexander 法によるが，われわれの今回の実験においては本法の後染色に用いられる Acid green および Acid yellow (Tropaealin OO) が入手できなかつたので，その代用として 0.1% Tripaflavine を用いた。この方法によると黄色の視野の中に fuchsin で染つた抗酸型と methylene blue で染つた青染型が美しくはつきりみえる。

また菌型および染色性と薬剤耐性との関係をもしらべてみた。

成　　績

被検標本 331 例のうち肉眼的に病巣の性状を明かにし得たものは 283 例であつたので，この例について結核菌の鏡検および培養の成績をしらべたのが表1である。この表に明かに示されているように，283 例のうち 74 例すなわち 26.2 %に所謂塗抹陽性培養陰性菌がみられる。病巣の種類との関係をみると，その出現率が乾酪巣に多いことは諸家の研究と一致するが，閉鎖性空洞にも高率である。これは乾酪巣と閉鎖性空洞との病態生理的条件が類似しているためと思われる。また鏡検培養の成績を通して病巣全体

表 1.　各種病巣内結核菌の塗抹染色ならびに培養成績

病巣の性質 / 方法		空洞内容液状	空洞 開放性	空洞 閉鎖性	撒布巣 古い	撒布巣 新しい	乾酪巣 崩あ壊り	乾酪巣 崩な壊し	健康部	気管支	膿胞液	石灰化巣	肺門淋巴腺	腎空洞	腎空洞内容	計
培養(+)	塗抹(+)	14	36	1	6	4	18	13	1	1	2	0	1	0	1	98
		(100)	(72.0)	(5.8)	(16.3)	(44.4)	(29.0)	(21.7)	(6.7)	(50.0)	(50.0)		(16.7)		(33.4)	(34.7)
	塗抹(−)	0	5	2	7	3	6	6	2	0	1	0	0	0	0	32
			(10.0)	(11.8)	(18.9)	(33.3)	(9.7)	(10.0)	(13.3)		(25.0)					(11.4)
培養(−)	塗抹(+)	0	4	9	7	0	31	19	3	0	0	0	1	0	0	74
			(8.0)	(52.9)	(18.9)		(50.0)	(31.7)	(20.0)				(16.7)			(26.2)
	塗抹(−)	0	5	5	17	2	7	22	9	1	1	2	4	2	2	79
			(10.0)	(29.5)	(45.9)	(22.3)	(11.3)	(36.6)	(60.0)	(50.0)	(25.0)	(100.0)	(66.6)	(100.0)	(66.6)	(27.7)
計		14	50	17	37	9	62	60	15	2	4	2	6	2	3	283
		(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)

をながめてみると，崩壊ある乾酪巣を除いては，塗抹陽性培養陰性菌の出現率の大きい病巣，すなわち閉鎖性空洞，古い撒布巣，崩壊のない乾酪巣および健康部においては塗抹培養の両者とも陰性ないわば完全陰性率が高く，また塗抹培養の両者とも陽性ないわば完全陽性率が低いことが認められ，また例は少いが新しい撒布巣には塗抹陽性培養陰性菌が認められない。このことは，一先ず，塗抹陽性培養陰性菌は，直接化学療法剤によるかあるいは病巣内の物理化学的条件に影響せられて，その生活力がかなりの程度に低下したものか，あるいは生存様式が変つたものであることを示しているものではなかろうか。しかしながら，崩壊ある乾酪巣においては，塗抹陽性培養陰性菌の出現率は高率であるにもかかわらず，完全陰性率が極めて低く完全陽性率がかなり高いことは，塗抹陽性培養陰性菌も好条件が与えられれば，かなりの程度に生活力旺盛な菌に復帰する可能性を示しているものではなかろうか。

ここでついでに注意をうながしておきたいことは，被検材料 283 例の中 32 例すなわち 11.4 %に塗抹陰性培養陽性菌が出現していることである。もちろん一般の喀痰検査の場合にはこの程度の鏡検陰性率は普通であつて，この意味においては問題にならないかもしれないが，われわれの場合は Alexander, Ziehl-Neelsen および Hallberg の3者を用いて入念に検境しているし，また一方後からの培養成績にみられるように，このような例からもかなり濃厚に菌が培養されていることからみると，唯単に鏡検の見落しとばかり考えられない節がある。この事実は Canetti[15]

および隈部[16]が想像しているように，結核菌には現在われわれがもつている染色法では染め出されないような1つの相があることを示唆しているものではなかろうか。われわれは，Hauduroy[17]が記載しているように，普通の培養基上の結核菌はAlexanderの染色法で赤，青，黄に染め出されることをみている。この方法でin vivoで黄染する菌があれば，それは黄色の背景にかくれるので，検出不能である。この点に関し，束村[27, 28]は，鳥型結核菌の非抗酸性網状構造はmethylene blueに染りにくくなることをみているが，以上の問題と関連して興味深く思われる。

各病巣内の生菌数をみると表2に示されているように，開放性空洞および新しい撒布巣においては菌の陽性率が断然高く，また菌数も極めて多いが，塗抹陽性培養陰性菌の出現率の高い閉鎖性空洞および乾酪巣殊に崩壊のないものにおいては陽性率は極めて低く生菌数も少い。ここに興味あることは，閉鎖性空洞と崩壊のない乾酪巣においては，菌の陽性率および生菌数がほぼ同様の傾向を示し，また同じ乾酪巣でも，崩壊あるものにおいては崩壊ないものに比べて生菌数が非常に多いことである。これは剖検材料から得られた隈部の病理細菌学的鏡検所見とよく一致する。

表2　主なる病巣内の生菌数

病巣の性質 / 生菌数	空洞		撒布巣		乾酪巣		計
	開放性	閉鎖性	古い	新しい	崩壊あり	崩壊なし	
10万＞	20 (40.0)	0	1 (2.7)	3 (33.2)	2 (3.2)	0	26 (11.1)
1万～10万	7 (14.0)	0	1 (2.7)	2 (22.2)	4 (6.5)	1 (1.7)	15 (5.9)
1000～1万	8 (16.0)	1 (5.9)	4 (10.8)	2 (22.2)	10 (16.1)	9 (15.0)	34 (14.9)
100～1000	6 (12.0)	2 (11.7)	7 (18.9)	0	8 (12.9)	9 (15.0)	32 (13.6)
(−)	9 (18.0)	14 (82.4)	24 (64.9)	2 (22.2)	38 (61.3)	41 (68.3)	128 (54.5)
計	50 (100.0)	17 (100.0)	37 (100.0)	9 (100.0)	62 (100.0)	60 (100.0)	235 (100.0)

*　組織1g中の生菌数

ついでに，前に述べた鏡検陰性培養陽性菌の出現率が比較的高いと思われた新しい撒布巣（表1参照）の培養成績をみると，生菌数が比較的多いことが認められる。培養でこの程度菌がでてくる場合には，理論的には鏡検上1～数視野に1ケの菌は存在しているはずであるから，前に記述したように，この辺にもなにか問題がのこされているように思われる。

表3は各病巣の性状とそこにみられる菌の形態との関係を示したものであるが，完全陽性率100%である空洞内容には通常の形態をもつたI型の結核菌のみみられて，塊状，糸状あるいは顆粒状のものは全くみられないが，病巣が停止性になるにつれて，II，III，IV型すなわち塊状，糸状，顆粒状のものが多くなる傾向がみられる。ことに，一方塗抹陽性培養陰性菌の出現率の高い閉鎖性空洞および崩壊のない乾酪巣においては顆粒型がとくに多いこと，および開放性空洞および新しい撒布巣には顆粒型が全くみられないこと，他方同じ撒布巣でも新しいものにおいてはII型以下のいわば異状形態は稀であるが，古いものにおいてはそれらが高率に出現することは，**II型以下の変形した形態特に顆粒型の出現は病変の治癒状態と密接な関係がある**ことがうかがわれる。また同じ乾酪巣でも崩壊のないものにおいてはI型が少く，とくにIIIおよびIV型が多く，これと逆に崩壊あるものにおいては，I型が多くIV型が少いことは，糸状および顆粒状のような結核性の病的材料でなければ通常の結核菌と同定できないまでに変型した結核菌

表3　各種病巣と菌の形態

病巣の性質 / 菌の形態	空洞の液状内容	空洞		撒布巣		乾酪巣		その其	計
		開放性	閉鎖性	古い	新しい	崩壊あり	崩壊なし		
I型（桿菌または集束状）	14 (100.0)	32 (82.1)	1 (11.1)	4 (30.8)	3 (75.0)	10 (21.7)	4 (12.5)	6 (60.0)	74 (44.3)
II型（塊状）	0	4 (10.3)	1 (11.1)	2 (15.3)	0	7 (15.2)	1 (3.1)	0	15 (9.0)
III型（糸状または連珠状）	0	3 (7.6)	2 (22.2)	5 (38.6)	1 (25.0)	20 (43.5)	14 (43.8)	3 (30.0)	48 (28.6)
IV型（顆粒状）	0	0	5 (55.6)	2 (15.3)	0	9 (19.6)	13 (10.6)	30 (18.1)	30 (18.1)
計	14 (100.0)	39 (100.0)	9 (100.0)	13 (100.0)	4 (100.0)	46 (100.0)	32 (100.0)	10 (100.0)	167 (100.0)

も決してすべてが死菌ではなく，中には生活力をもつたものがあり，環境条件がよくなるとまた元の通常の菌に復帰し得ることを示唆しているものではなかろうか。

菌の形態と生菌数との関係をしらべてみると，表4に示してあるように，通常の桿菌型から顆粒型に移行するにつれて培養陰性率が高くなり，かつ生菌数も順次少くなつ

表4　菌の形態と生菌数

菌の形態 / 生菌数	10万＞	1万～10万	1000～1万	100～1000	(−)	計
I型（桿菌集束状）	40 (54.1)	9 (12.2)	9 (12.2)	7 (9.3)	9 (12.2)	74 (100.0)
II型（塊状）	2 (13.3)	2 (13.3)	4 (26.6)	1 (6.8)	6 (40.0)	15 (100.0)
III型（糸状連珠状）	2 (4.2)	2 (4.2)	5 (10.4)	8 (16.6)	31 (64.6)	48 (100.0)
IV型（顆粒状）	0	0	4 (13.3)	4 (13.3)	22 (73.4)	30 (100.0)
計	44 (26.3)	13 (4.3)	22 (13.2)	20 (11.9)	68 (44.3)	167 (100.0)

ていくことがわかる。このことは，一先ず，生体内の結核菌は通常の型から変形して顆粒状に移行するにしたがつて生活力が減退するかあるいは生存様式が変つて，普通の培養基に生えなくなることを示しているものと思う。

表5は菌の形態と染色性との関係を示したものであるが，この表にみられるように，通常の形態を有するI型に

表5　菌の形態と染色性

菌の形態 / 染色性	赤染菌のみ	赤染菌＞青染菌	赤染菌＝青染菌	赤染菌＜青染菌	青染菌のみ	計
I型（桿菌集束状）	28 (37.8)	31 (41.9)	8 (10.8)	7 (9.5)	0	74 (100.0)
II型（塊状）	3 (20.0)	3 (20.0)	6 (40.0)	2 (20.0)	0	15 (100.0)
III型（糸状連珠状）	12 (25.0)	11 (22.9)	8 (16.7)	17 (35.4)	0	48 (100.0)
IV型（顆粒状）	3 (10.0)	5 (16.6)	5 (16.6)	7 (23.5)	10 (33.3)	30 (100.0)
計	46 (27.5)	50 (29.9)	27 (16.1)	34 (20.3)	10 (6.2)	167 (100.0)

は抗酸性がよく保有されているが　変形して顆粒型に移行するにつれて青染型が増加することがわかる。この実験からみても，結核の病的材料の鏡検に従来の **Ziehl-Neelsen** 法にのみたよつていることは危険であることがわかる。また通常形態のI型の場合は青染型のみのものは全くなく，顆粒型にはかなりの高率にそれが現われること，かつ，顆粒型の場合においても抗酸性のみのものがかなり認められることは記憶さるべき事実であろう。

各病巣内の抗酸型と青染型の割合をしらべてみると，

表 6　各種病巣と染色性

染色性＼病巣の性質	空洞の液状内容	空洞 開放性	空洞 閉鎖性	撒布巣 古い	撒布巣 新しい	乾酪巣 崩壊あり	乾酪巣 崩壊なし	その其	計
赤染菌のみ	1 (7.1)	16 (41.0)	2 (22.2)	5 (38.4)	1 (25.0)	9 (19.6)	4 (40.0)	46 (27.5)	46 (27.5)
赤染菌＞青染菌	12 (85.8)	12 (30.8)	0	2 (15.4)	2 (50.0)	10 (21.7)	9 (28.1)	2 (20.0)	49 (29.3)
赤染菌＝青染菌	0	7 (17.7)	1 (11.2)	3 (23.1)	0	12 (26.1)	4 (12.5)	1 (10.0)	28 (16.8)
赤染菌＜青染菌	1 (7.1)	4 (10.5)	4 (44.4)	2 (15.4)	1 (25.0)	13 (28.3)	7 (21.9)	2 (20.0)	34 (20.4)
青染菌のみ	0	0	2 (22.2)	1 (7 7)	0	2 (5.3)	4 (12.5)	1 (10.0)	10 (6.0)
計	14 (100.0)	39 (100.0)	9 (100.0)	13 (100.0)	4 (100.0)	46 (100.0)	32 (100.0)	10 (100.0)	167 (100.0)

表6に示してあるように，通常形態のⅠ型菌のみ認められる空洞の内容物の中には抗酸型が多く，塗抹陽性培養陰性菌の多い閉鎖性空洞および乾酪巣には青染型が多い。また病巣全体をみると病巣が停止性になるにしたがつて菌の青染型が増加している傾向がみられる。

表7は菌の染色性と生菌数との関係をしらべた成績であるが，この表に明かなように青染型が増すにつれて生菌数が少くなり，培養陰性のものが多くなつている。すなわち菌の増殖率を抗酸型のみのものと青染型のみのものとについて比較すれば，前者において約 70 %，後者において 30 %である。また抗酸型が青染型より多い場合をその逆の場合と比較すると，前者において 70 %弱，後者において 50 %強であつて，この成績は明かに通常の抗酸型が青染型に比べてはるかに増殖力が優ることを示しているものと思う。

表 7　染色性と生菌数

染色性＼生菌数	10万＞	1万～1万	1000～1万	100～1000	(−)	計
赤染菌のみ	10 (21.7)	5 (10.8)	10 (21.7)	8 (17.6)	13 (28.2)	46 (100.0)
赤染菌＞青染菌	22 (44.8)	5 (10.4)	3 (6.1)	3 (6.1)	16 (32.6)	49 (100.0)
赤染菌＝青染菌	5 (17.8)	1 (3.7)	3 (10.7)	5 (17.8)	14 (50.0)	28 (100.0)
赤染菌＜青染菌	7 (20.6)	2 (5.7)	4 (11.8)	3 (8.8)	18 (52.9)	34 (100.0)
青染菌のみ	0	0	2 (20.0)	1 (10.0)	7 (70.0)	10 (100.0)
計	44 (26.3)	13 (8.8)	22 (13.1)	20 (11.9)	68 (46.7)	167 (100.0)

表 8　SM 総使用量と病巣内結核菌 SM 耐性との関係

薬剤使用量＼病巣＼耐性*	空洞 完全	空洞 不完全	空洞 なし	空洞 計	撒布巣 完全	撒布巣 不完全	撒布巣 なし	撒布巣 計	乾酪巣 完全	乾酪巣 不完全	乾酪巣 なし	乾酪巣 計
＜ 40g			2	2							3	3
＜ 70	1	1	3	5			2	2				
＜ 100	7	5	9	21		1	3	4	1		2	3
＜ 130	8	7	1	16	3	2	3	8		1	2	3
＞ 130	8	1		9	1	1	1	3				
計	24	14	15	53	4	4	9	17	1	1	7	9

* 耐性判定基準は 10r/ml

以上は人体肺病巣中に存在する結核菌の形態，染色性，培養成績および病巣の肉眼的性状の相互関係をしらべた成績であるが，これに関連して問題になるのは各病巣中

結核菌の薬剤耐性の問題である。文献をみると肺病巣内結核菌の薬剤耐性度は病巣の種類によつて著差なしとするものと，かなりの差を認めているものがあるが，この点に関するわれわれの研究室の研究成績ではかなりの差があることがわかつた。また一般に空洞内の結核菌の薬剤耐性出現率は高度で，閉鎖性病巣ではかなり低いこともみられているが，われわれの今回の研究では，表8に示されているように，肺病巣内の結核菌のSM耐性出現率および耐性度は空洞において最も高く，ついで撒布巣，乾酪巣において最も低かつた（INAH および PAS 耐性は例数が少く今回は比較できなかつた）。

つぎに，病巣内結核菌の薬剤耐性出現状況と，病巣の生菌数，菌の形態および染色性との関連性をみると表9，10．11 に示されているように，生菌数，通常形態および抗酸型が多いほど，薬剤耐性が高度に出現することが認められる。

前の実験で肺病巣内の結核菌は抗酸性をもつた通常形態のものほど，通常の培地において発育増殖がよいこと，すなわち分裂が盛んに行われることがわかつているし，また表8に示した耐性に関する実験で，肺病巣内の結核菌の薬剤耐性出現の度合は，空洞，撒布巣，乾酪巣の順であることをしつたが，この順序もまた各病巣内の生菌数の順位に一致している。

結核菌の分裂増殖の度合が結核菌の薬剤耐性獲得に密接な関係がある事実からみると，上述の現象は，生体内における結核菌の分裂増殖の度合の差によつて生じた当然の結果であると考えられ，われわれも，現在のところ一先ず本現象の原因をそこは求めておきたいのであるが，ただここにとくに注意をうながしておきたいことは，生体内で**青染性で連珠状，糸状，特に顆粒状に変型した結核菌はほとんど薬剤耐性を獲得していない**という事実である。しかも

表 9　生　菌　数　と　耐　性

生菌数＼耐性	耐性あり 完全 SM	PAS	INAH	小計	不完全 SM	PAS	INAH	小計	計 SM	PAS	INAH	総計	耐性なし SM	PAS	INAH	総計	検査例数	延総検査数	耐発生性率(%)
10 万 <	23	12	2	37	11	8	4	23	34	20	6	**60**	9	23	35	**67**	43	**127**	47
1万 ～ 10万	4	0	0	4	6	3	0	9	10	3	0	**13**	5	12	13	**30**	15	**43**	30
1000 ～ 1万	2	2	0	4	1	1	0	2	3	3	0	**6**	6	6	8	**20**	9	**26**	23
100 ～ 1000	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	**1**	7	8	8	**23**	8	**24**	4
計	30	14	2	46	18	12	4	34	48	26	6	**80**	27	49	64	**140**	75	**220**	

SM PAS は 10γ/c.c. ｝耐性
INAH　は 1γ/c.c. ｝

表 10　菌　の　形　態　と　耐　性

菌形態＼耐性	耐性あり 完全 SM	PAS	INAH	小計	不完全 SM	PAS	INAH	小計	計 SM	PAS	INAH	総計	耐性なし SM	PAS	INAH	総計	検査例数	延総検査数	耐発生性率(%)
I　型	21	12	2	35	16	8	3	27	37	20	5	**62**	12	29	41	**82**	49	**144**	43
II　型	2	0	0	2	0	0	1	1	2	0	1	**3**	4	6	5	**15**	6	**18**	16
III　型	2	0	0	2	1	1	0	2	3	1	0	**4**	3	5	6	**14**	6	**18**	22
IV　型	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	**0**	2	2	2	**6**	2	**6**	0
検鏡陰性	5	2	0	7	1	3	0	4	6	5	0	**11**	6	7	10	**23**	12	**34**	
計	30	14	2	46	18	12	4	34	48	26	6	**80**	27	49	64	**140**	75	**220**	

SM PAS は 10 γ/c.c. 耐性
INAH　は 1 γ/c.c. 耐性

表 11 染色性と耐性

染色性＼耐性	耐性あり 完全 SM	PAS	INAH	小計	不完全 SM	PAS	INAH	小計	計 SM	PAS	INAH	総計	耐性なし SM	PAS	INAH	総計	検査例数	延総検査数	耐性発生率(%)
赤染菌のみ	9	5	1	15	5	5	2	12	14	10	3	27	5	9	15	29	19	56	48
赤染菌＞青染菌	13	7	1	21	10	3	1	14	23	10	2	35	9	22	28	59	32	94	37
赤染菌＝青染菌	2	0	0	2	1	1	1	3	3	1	1	5	4	6	6	16	7	21	24
赤染菌＜青染菌	1	0	0	1	1	0	0	1	2	0	0	2	1	3	3	7	3	9	22
青染菌のみ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	3	1	3	0
検鏡陰性	5	2	0	7	1	3	0	4	6	5	0	7	7	8	11	26	13	37	
計	30	14	2	46	18	12	4	24	48	26	6	80	27	49	64	140	75	220	

SM PAS は 10 γ/c.c. } 耐性
INAH は 1 γ/c.c. }

これら変形した結核菌も，前述の実験成績からうかがわれるように，環境条件の好転とともにふたたび通常の結核菌に復帰し得る能力を十分もつているのである。また一方塗抹陽性培養陰性菌の出現頻度を菌の形態別および染色性別にみると，表 12 および 13 に示されているように，本菌の出現は通常の形態をもつた抗酸型（Ⅰ型）には低く，糸状型，顆粒型および青染型に高率であることがうかがわれる。塗抹陽性培養陰性菌の問題に関連して，生体内における結核菌の薬剤耐性に関する複雑な問題のからくりを究明する鍵がこの辺に存在するように思われる。

表 12 菌の形態と塗抹陽性培養陰性菌の出現頻度

菌形態＼	Ⅰ型	Ⅱ型	Ⅲ型	Ⅳ型	不検	計
塗抹陽性	64	9	17	8	0	98
培養陽性	(65.3)	(9.2)	(17.4)	(8.1)		(100)
塗抹陽性	9	6	31	22	6	74
培養陰性	(12.2)	(9.2)	(41.9)	(29.5)	(8.2)	(100)

（ ）内は百分率

表 13 菌の染色性と塗抹陽性培養陰性菌の出現頻度

染色性＼	赤染菌のみ	赤染菌＞青染菌	赤染菌＝青染菌	赤染菌＜青染菌	青染菌のみ	不検	計
塗抹陽性	33	32	14	16	3	0	98
培養陽性	(33.7)	(32.7)	(14.2)	(16.3)	(3.1)		(100)
塗抹陽性	13	16	14	18	7	6	74
培養陰性	(17.6)	(21 6)	(18.9)	(24.2)	(9.5)	(8.2)	(100)

（ ）内百分率

全体の考察

以上われわれは，所謂塗抹陽性培養陰性結核菌の正体を追及する目的で，生前化学療法をうけていた患者の屍体および化学療法をうけた患者の切除肺標本中の結核菌について，形態および染色性の変化，培養の成績および病巣の性状を相互に比較してみた。で形態および染色性の上では，病巣中の結核菌は通常の桿菌状集束状を呈する外に，塊状，糸状，連珠状，顆粒状と極めて多型的に変化し，また抗酸性も大体この順序に脱落することがわかつた。しかしながらこの現象は現在の化学療法下に特異的におきてきたものでないことは，化学療法時代以前にも Canetti，限部その他[18, 19] が人体結核屍の肺標本中にも同様な所見を観察していることから明かである。またわれわれ今回の研究においても，先人の業績に一致して，所謂塗抹陽性培養陰性結核菌は停止性の病巣殊に乾酪巣に多いこともわかつたが，乾酪巣からこのような菌がでることは，化学療法時代以前に Canetti, Katz[19] が報告しているし，また喀痰中にもこのような場合がわずかながら存在していたことは明かであるから，これもまた現在の化学療法時代に特異的に出現してきたものではない。

以上の事実に立脚すると，上に述べたような生体内結核菌の形態および染色上の変化，および直接鏡検では証明できるが普通の培養では証明できないというような現象は結核菌それ自体に必然的に内包された性質，いわば結核菌独自の性質から由来したものと考えられる。いいかえれば，結核菌は生来ある一定の形態的生理的変異性をもつていて，この性質が環境条件の如何によつて強く現われたり

弱く現われたりするものと解釈するのが妥当であろう。そこで現在の化学療法下において上述の結核菌の形態的生理的変化が頻繁がみられるようになつたことは，現在の化学療法剤が，直接にかあるいは間接にか，結核菌のこのような変異性の出現を促進するように作用しているものと考えられる。しからば，まず結核菌のこのような変異性は生物学的または細菌学的に如何なる意義があるのであろうか。

人体の肺の結核病巣内においては，問題の塗抹陽性培養陰性菌は停止性の病巣殊に乾酪巣に多いことはすでに異論のない事実である。ところでこの乾酪性病巣中には糸状，連珠状，顆粒状の変形菌の出現率が最も多いので，塗抹陽性培養陰性菌はこの変形菌に密接に関係していると考えられる。しかもこの病巣の材料には塗抹培養の両者が陰性な完全陰性率が高く（化学療法以前に，乾酪巣の動物接種成績は陰性率 50 %，石灰化巣のそれは 82 %であつたと Canetti が諸家の報告をまとめて報告している），培養陽性度も低いことから考えると，一応これら変形型の生活力はかなり低下していると考えられるが，他方乾酪巣が崩壊すると，変異型特に顆粒型が著明に減少して通常の桿菌状，集束状およびそれに近い塊状のものが多くなる事実からみると（このことは Canetti, 隈部が組織標本でみている），これら変形型もかなり旺盛な生存力をもつていることがうかがわれる。このような観点に立つて，われわれは上述の**結核菌の形態的生理的変化は，単に結核菌が化学療法剤の作用によるかまたは環境条件の悪化によつて死滅破壊に向う道程中におこる現象ではなくて，逆に結核菌が悪条件と闘つて生存していくために呈する変化である**と解釈したいのである。

この点に関し，近年細菌学全般にとつて興味ある問題は細菌の L-型（L-form）および L-発育環（L-cycle）の存在である[20, 21, 22]。われわれのしる限りにおいては，日本にはまだこれに関する研究報告はないようであるが，欧米においては Klieneberger-Nobel[21], Hauduroy[22] の研究に端を発して目下欧米各国とくに英米仏独において盛んに研究されている細菌学免疫学上の重大問題である。この知見にしたがうと，通常一般の細胞分裂によつて発育増殖している細菌類，とくにグラム陰性菌は，環境条件が悪くなるかまたは色々な化学薬剤および抗生物質，特にペニシリンの作用によつて L-発育環に移行し，所謂 L-型細菌を生ずるというのである。この L-型細菌は，一旦異様に膨脹した母細胞の中に出現する無数の基本小体（elementary body）が，母細胞が破裂することによつて生じたもので，大きさは光学顕微鏡以下であるという。この L-型菌は環境の悪条件によく抵抗し，化学薬剤および抗生物質にも極めて抵抗が強いという。この L-型菌は普通培地には生えないので培養が極めて困難であるが，ある種の細菌については純培養に成功している。これはまた，環境条件が好転すれば，それが生じた時と逆のコースを通つて元の菌に復帰し，復帰した菌は L-型菌とは逆に化学薬剤および抗生物質に対して感性であるという（これに関しては Klieneberger-Nobel および Tulasne[20] の詳細な総説がある）。

結核菌において L-form または L-cycle が存在するという確実な証拠はまだあがつておらないが，結核菌に濾過型が存在すること，および結核菌には顆粒型を通つた一定の発育環があるらしいことが近年だんだん明かにされてきている。最近 Rosenthal[23] は胆汁馬鈴薯培地上における BCG 菌の発育様式を研究し，BCG 菌の発育様式には通常の fission method の外に granular method があることを認め，前者は環境条件の良好の場合に，後者は不良の場合に現われるらしいと述べている。また結核菌は動物体内に接種されるとすみやかに非抗酸性の顆粒となり，これは培養しても生えてこないが動物を感染する能力をもつていることなども報告されている。

結核菌のこのような形態的生理的変化はその機序において一般細菌の L-cycle のそれと軌を同うする可能性が十分にあり，現に最近 Bassermann[24] は吸引療法によつて取つた結核空洞内容物を詳細にしらべることによつて，結核菌に L-form が存在する可能性を強く主張している。Brieger[29] もまた生体内において特に貪食細胞に食菌された結核菌にこのような可能性があることを主張している。われわれも今回の研究結果から，その可能性を主張するものであるが，とくにわれわれの薬剤耐性試験において変形型とくに顆粒型から由来したと思われる結核菌に薬剤耐性獲得の度合がきわめて小さい傾向がみられることは，ますますその可能性を大きくしているものと思われる。このような諸事実からわれわれは**生体内における結核菌の一定の変形型は抵抗型である**と考えているのである。また現在の化学療法時代にとくに頻繁にみられるようになつた所謂塗抹陰性培養陽性菌の出現は，前に述べたように決して薬剤による特異的な現象でもなく，単なる死滅への道標でもなく，それは結核菌が生体内において不良な環境条件に抵抗して生存していくために形態的生理的変化をおこす道程に現われる現象であると解釈することができる。したがつて塗抹陽性培養陰性結核菌の研究はこの観点，とくに一般細菌の L-型菌と関連してなさるべきであると考える。もちろん，臨床的に喀痰中の結核菌を検査する場合は，喀痰中に溶けこんだ薬剤の作用によつて結核菌の発育が停止されて，ために塗抹陽性培養陰性の現象を呈することはありうることであるが[25, 26]，これは，表 12，13 の成績から想像できるように，現象の極一部であつて，奥にはやは

り上述したような結核菌の本来の性格にもとずく機構が強く介在しているものと思われる。長期間化学療法を受けて一旦治癒したと思われた患者が治療中止後再発する事実は，結核菌が生理的形態的に変形して悪条件を克服して生存し得る可能性を考慮に入れれば，容易に理解できるわけである。

総　　括

1) 切除肺材料の細菌学的検査の結果からみると，病巣内の結核菌は環境条件が悪化するにしたがつて一定の形態的生理的変化をおこして通常の桿菌状から塊状，糸状，顆粒状に移行し，抗酸性もまた脱却する。

2) このように形態的生理的に変化した結核菌も環境条件が好転すればまたもとの通常の結核菌に復帰し得る可能性が十分に認められるので，この現象は単に結核菌が死滅するための現象ではなくして，むしろ結核菌が環境の悪条件を克服して生存を続けるための現象であると考えられる。環境の悪条件によつて変形した菌はいわば抵抗型であると考えたい。

3) いわゆる塗抹陽性培養陰性菌は，病巣の性状からみると，停止性の病巣に多く出現するが，菌の形態からみると通常の形態をもつた菌には少く，変形菌とくに糸状型および顆粒型に多く，また染色性からみると青染型に多い。

4) 病巣内結核菌の薬剤耐性出現の頻度は，3) の事実とは逆で，抗酸性をもつ通常型に高く，青染型の変形菌には低く，ことに顆粒型にはほとんど出現しないと考えられる。

5) 以上の諸事実から，いわゆる塗抹陽性培養陰性結核菌の出現は，結核菌が病巣内で薬剤に接した結果としてみられることも可能であろうが，大部分は結核菌が環境の悪条件とたたかいながら生存していくためにみられる現象で，病巣内における結核菌が環境条件に応じて生理的形態的に一定の変化をすることと密接な関係があると考えられる。この意味において，病巣内における塗抹陽性培養陰性結核菌の出現は，一般細菌の場合における L-型菌の出現と同一機転に属するものではないかと考えられる。

主 要 文 献

1) Meisner, G.: Zeitschr. f. Hygiene, **139**, 489, 1954.
2) Medlar, E. M. et al.: Amer. Rev. Tuberc., **66**, 36, 1952.
3) 牛場大蔵外：日新医学，**42** (7)，381，1955.
4) 胸部外科，**8** (6)，昭 29，3．切除肺からみた化学療法と病理細菌．
5) 伊藤忠雄：結核診療，**8** (3)，206，1955.
6) 高山瑩外：結核の臨床，**3** (5)，42，1955.
7) 〃　：　〃　，**9** (5)，729，1955.
8) 赤倉一郎外：日本臨床結核，**13** (11)，867，1954.
9) 橋本政章外：日本臨床結核，**14** (7)，612，1955.
10) 伊藤忠雄：結核，**28**，442，1953.
11) 室橋豊穂：文部省総合研究結核研究班報告，昭 31．6，9.
12) Desbordes, J.: Diagnostic Bacteriologique des Mycobactéries, Masson, Paris, 1951.
13) Alexander, J. E.: Science, **99**, 307, 1944.
14) Hallberg, V.: Nord. Med., **4**, , 164, 1940.
15) Canetti, G.: Le Bacille de Koch dans la Lésion Tuberculeuse du Poumon, Flammarion, Paris 1946.
16) 隈部英雄；人体内における結核菌の生態，保健同人社，1949.
17) Hauduroy et al.: C. R. Soc. Biol., **142**, 1510, 1948.
18) Beck, F. and Yegian, D.: Amer. Rev. Tuberc **66**, 44, 1952.
19) Katz, H. L.: 3 より引用.
20) Tulasne, R.: Revue Imm., **15**, (4) 223, 1951.
21) Klieneberger-Nobel, E., Bact. Rev., **15**, 77, 1951.
22) Hauduroy, P.: Presse Méd., **63** (52), 1079, 1955.
23) Rosenthal, S. R.: Ann. Inst. Past., **88**, 479, 1955.
24) Bassermann, F. J., Zeitschr. f. Tuberk., **106** (2), 70, 1955.
25) 岡　捨己：日本医事新報，1635，3，昭和 30.
26) 〃　：　〃　，1652，5，〃 30.
27) 東村道雄：結核 **25**，655，1950.
28) 〃　：　〃 **26**，373，1951.
29) Briger, E. M.: A Ciba Foundation Symposium: Experimental Tuberculosis, J. and A. Churchill, London, 1955.