



Title	抗酸性菌とColi及びCandida albicansとの共棲に関する研究(Ⅰ)
Author(s)	横井, 敏夫; YOKOI, Toshio
Description	
Citation	結核の研究, 6, 59-68
Issue Date	1957-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/26618
Type	departmental bulletin paper
File Information	6_P59-68.pdf



抗酸性菌と Coli 及び *Candida albicans* との 共棲に関する研究 (I)

横井敏夫

(北海道大学結核研究所細菌部主任 大原 達教授)

(昭和32年2月15日受付)

緒 言

Mycobacteria を主としてその物質代謝の相違から分類せんとしたり、或いは又強毒菌と弱毒菌との生物学的な差違を代謝の面から追求せんとした研究は古来甚だ多い。例えば Bloch¹⁾, Wilson²⁾ 等は脱水素酵素作用によつて毒力菌と弱毒菌とを鑑別し、占部³⁾ 戸田、占部⁴⁾ は catalase, peroxidase の強弱を定量的に測定する事によつて抗酸性菌を分類し得ると述べている。又山村⁵⁾ は物質代謝の定性的差違により菌型を鑑別しようと試み、安息香酸サリチル酸、ブレンツカチヒン等による内部呼吸の変化、種々なる基質の酸化による呼吸量の変化及び耐熱性酵素の有無等について調べている。内藤⁶⁾ は テルリットと醋酸鉛加培地に於ける各菌の発育、及び還元能から抗酸性菌を分類せんとし、今野⁸⁾ は培養濾液中に出現するニコチン酸を定量する事により、また著者⁹⁾ は菌の生菌単位、乳酸脱水素酵素活性等の時間的消長を観察する事により、何れも菌株菌型の鑑別を行わんと志した。然し以上のすべてを総合しても、いまだ確実に菌型を鑑別し得るような方法は見いだされていない。然しながら動物実験を行わずして菌の毒力の強弱を判定し、または菌型を鑑別する事は、結核研究上非常に重要な問題であるので、著者はこれ迄と異つた観点からこの問題を追求せんとし、以下に報告するとき共棲実験を行つた。即ち本実験は、抗酸性菌の色々な strain に適当な他の菌を共棲せしめた場合、毒力を異にする *Mycobacteria* の菌株間には、その発育上乃至は代謝過程上、相互に区別し得るような相違を共棲によつて生ずるか否かを調べようとしたものである。即ち著者は、若しかかる相違が見られるならば、これによつて強毒株、弱毒株間の代謝における相違の一端を知り、ひいては菌型の分類、鑑別にも利用し得るのではないかと考えた。この考えは、同じ抗酸菌であつても菌株菌型を異にするもの間

には代謝過程において当然異なる所があるに違いないと言う想定から出発したもので、若し代謝が異なればその代謝産物も異なる筈であり、従つてこれに適当な菌を共棲せしめた場合にもそれぞれ異つた変化が見られはしないかと期待したものである。共棲菌としては人体と関係が深い菌種と言う意味から、体内常住菌である大腸菌、ブドウ球菌、変型菌、*Candida albicans* を選び、これに抗酸性菌の各株をそれぞれ共棲せしめた。その結果、人型菌強毒株と弱毒株間に共棲成績において互に鑑別し得るような相違を見出し得なかつたが、菌型を異にしたものについての共棲実験においては、2, 3 の興味ある知見を得たので、その成績をここに報告したいと思う。

実験方法

I) 抗酸性菌株 仲野株, H 37 Rv 株, 青山B株, (以上何れも人型菌強毒株), 今村 喜文字株 (人型菌弱毒株, 以下今村株と略記す)。H 37 Ra 株 (人型菌無毒株), BCG 予研株, 竹尾株, F 株, Av 株, 細谷株 (以上何れも鳥型菌), *M. phlei*, *M. smegmatis*, 芝 B1160, 芝 B 327, Grass, Courmon, モルII, モルIII 各株 (以上何れも非病原性抗酸性菌, 以下非抗菌と略記す)。尚本論文に於ては以下便宜上、人型菌各株及び BCG を総称して「結核菌」と記載する事にする。上記各株のうち H 37 Ra 株は予防衛生研究所より分譲を受けたものであり、他はいずれも当研究所保存のものである。

II) 共棲菌株 *B. coli communis* (以下 Coli と略記す)。Staphylococcus aureus 寺島株 (以下 Staphylo と略記す)。Proteus 0x19 (以下 Proteus と略記す)。Candida albicans FA-1001 株 (以下, C. alb. と略記す)。以上の各菌種は北大医学部細菌より分譲を受けたものである。尚以上の菌種を総称して以下「共棲菌」と記載することにす。

III) 培地及び培養法 抗酸性菌の培地は、Sauton 培地を使用す。非抗菌、鳥型菌は3日～4日培養、結核菌は1週間より3週間培養のもので、菌膜の発育が最も良好なるものを使用した。共棲菌のうち C. alb は Sabouraud 培地1日～2日培養のものを用い、他の3種は普通寒天に1日～2日培養のものを用いた。

IV) 共棲実験 各抗酸性菌は Sauton 培地表面の菌膜を白耳取り、40 ml 入滅菌 Sauton 培地 (100 ml 入三角コルペン中) 表面に移し、一日間培養して雑菌の混入しない事を確めた上、共棲菌浮游液 (濁濁度 0.02 より0.07 位迄のもの) をピペットにて 0.2 ml 宛分注培養した。抗酸性菌の発育は培養5日目と10日目に菌膜の状態を観察し、後者は更に同じ方法で新しい Sauton 培地に継代を繰り返す、いずれの場合も5日目と10日目の菌膜についてその発育状態を記録した。

V) 共棲菌及び抗酸性菌の増殖度測定 共棲菌の発育を調べるには、抗酸性菌と共に培養した10日目の培養液を毛細管ピペットで取り、これを加熱滅菌した後分光光度計 (エルマⅢ型、波長は 650 mμ を使用) によつて濁濁度を読んだ。この場合の対照は抗酸性菌のみを培養した培養濾液である。抗酸性菌の発育は次の如き記号をもつて表わした。

⊕: 抗酸性菌膜が培養基表面総面積の約 1/4 を占めるもの

○: // 約 1/2 //
 ⊕: // 約 3/4 //
 ⊞: 抗酸性菌菌膜が培養基表面の略々全面を占めるもの
 ⊞: // がコルペンの管壁にはい上る程度迄増殖したもの
 r: // がばらばらになつて分散状態を示すもの
 △: // が薄くなつた状態を示すもの
 ●: // が下に沈んだもの
 *: 共棲菌が培養基表面に膜をはつたもの

VI) pHの測定法 SZK. 水素イオン比色計によつて測定す。

VII) 使用したツベルクリンの調製法 青山 B 株を Sauton 培地に8週間培養し、之を型の如く加熱滅菌して作つたものである。

VIII) 世代時間の測定法 Youmans¹⁰⁾ 新明¹¹⁾ 等の行つた方法による。即ち血清清 Kirschner 培地に 10⁻¹ mg より 10⁻⁶ mg 迄段階的に稀釈した菌量を接種し、菌が増殖して肉眼的に初めて観察される日より世代時間を測定した。

実験成績

I) 抗酸性菌と共棲菌との共棲実験

第1表に示す如く、M. phlei, M. smegmatis 及び

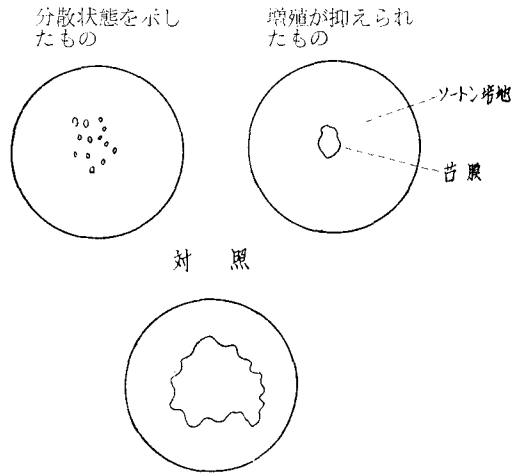
第 1 表 ソートン培地に於て共棲実験を行つた場合の抗酸性菌の増殖状態

継代	共棲菌株	使用菌株		H 37 Rv		青山B		BCG		鳥型		Smegma		Phlei	
		日数	株	5日	10日	5日	10日	5日	10日	5日	10日	5日	10日	5日	10日
一代目	Coli	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	△●	△●	+	+
	Staph	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	△●	△●	+	+
	Prot	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	△●	△●	+	+
	C. alb	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	△●	△●	+	+
	Control	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	△●	△●	+	+
二代目	Coli	+	+	r*	r*	r	r	+	+	+	+	+	△●	△	△
	Staph	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	△●	+	+
	Prot	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	△●	+	+
	C. alb	+	+	r	r*	+	+	+	+	+	+	+	△●	+	+
	Control	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	△●	+	+

鳥型菌は, Coli, Staphylo, Proteus, C. alb の4菌種と共に培養した場合共棲菌の増殖の如何に拘らず, 大体に於て対照(抗酸性菌単独培養)と同様の増殖状態を示した。但し継代2代目に於ける M. phlei は, Coli と共棲せしめた場合にその増殖が対照に比し幾分抑えられる傾向を示し, 菌膜も薄くなる場合が認められた(然し同じ実験を数回繰返して見ると, 幾分増殖の抑えられる事も確かにあるが, 対照と同様の増殖を示す場合も同様に見受けられたので, この成績は constant なものとは言えないかも知れぬ)。尚上記3株の抗酸性菌中 M. smegmatis のみは Sauton 培地において甚だ興味ある増殖状態を示した。即ちこの菌は培養5日目頃になると殆んど大部分の菌膜が下に沈み, そのあとの培地表面には極めて薄い菌膜が残されるのを特徴とする。

次に4種と共棲菌と共に H 37 Rv, 青山B, BCG の各株を培養した場合の成績を見るに, Proteus 及び Staphylo と共棲せしめた際には対照と異ならないが, Coli 及び C. alb と共棲せしめた場合には明らかに発育の抑えられる傾向が認められた。この点は M. phlei, M. smegmatis, 鳥型菌などと異なる点であるが, 一方本実験の目的の1つであつた毒力株と弱毒株との相違は見出せなかつた。即ち第2表に見る如く, 人型菌強毒株たる仲野, H 37 Rv, 青山B各株と人型菌弱毒株今村, 無毒株 H 37 Ra 及び BCG の3株の間には共棲実験に於て各々菌膜の発育状

第1図 Coli 及び C. alb と結核菌とを共棲せしめた場合に於ける結核菌の発育



態に差違を認め得ない。但し第1図に示したごとく, 何れの菌株もそれ単独に培養した対照に較べて著しい変化を示している事は注目に値する。即ち対照では菌膜が厚く, 良好な増殖状態を示しているのに反し, Coli, C. alb を共棲せしめた場合は継代2代目になると何れも顕著な増殖の抑制が見られ, 菌膜がばらばらの分散状態を示すか, また

第2表 共棲実験における抗酸性菌の増殖状態

継代	共棲菌株	抗酸性菌株		仲野		H 37 Rv		今村		BCG		H 37 Ra		鳥型		Phlei		対照の共棲菌濁度
		培養日数	菌数	5日	10日	5日	10日	5日	10日	5日	10日	5日	10日	5日	10日			
1代目	Coli	+	*	+	*	+	*	+	*	+	*	+	*	+	*	+	*	
	C. alb	+	*	+	*	+	*	+	*	+	*	+	*	+	*	+	*	
	対照	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	濁度			0.30	0.56	0.42	0.42	0.34	0.56	0.54	0.53							
2代目	Coli	+	*	+	*	+	*	+	*	+	*	+	*	+	*	+	*	
	C. alb	+	*	+	*	+	*	+	*	+	*	+	*	+	*	+	*	
	対照	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	濁度			0.38	0.48	0.50	0.43	0.50	0.54	0.70	0.68							
目	Coli			0.20	0.58	0.60	0.46	0.49	0.05	0.09	0.06							
	C. alb																	

表において +, *, ……等の記号は抗酸性菌の増殖度を表わし, 数字は Coli 又は C. alb の濁度を示す。

は菌膜が非常に薄くなり、時には全然増殖の傾向が見られない事もある。他方共棲菌側の増殖状態を見るに *Proteus* は抗酸菌との共棲において全く増殖せず、*Staphylo* は僅かに増殖が認められた。*Coli*, *C. alb* の増殖については次項において述べる。

II) 抗酸性菌と *Coli* 及び *C. alb* と共棲に関する実験

I) の実験結果から共棲により抗酸性菌に影響を及ぼし得るのは *Coli* 及び *C. alb* の2種のみである事を知つたので、抗酸性菌の菌膜の増殖状態と *Coli* 及び *C. alb* の増殖状態との関係をより詳細に調べて見た。抗酸性菌が共棲により増殖を幾分抑えられることは前述のごとくであるが、一方 *Coli* 及び *C. alb* の増殖状態を見るに、先ず *Coli* に於ては、継代1代目の場合、その濁濁度は結核菌との共棲に於て 0.30 から 0.56、鳥型、*Phlei* との共棲においてそれぞれ 0.56 及び 0.54、対照が 0.53 を示し、継代2代目の場合は結核菌と共棲せしめた場合 0.38 ~ 0.50、鳥型、*M. phlei* と共棲せしめた場合それぞれ 0.54 及び 0.70、対照 0.63 なる濁濁度を示し、対照に比し幾分濁濁度の少いものもあるが大差ある成績とは思われない。即ち抗酸性菌との共棲により *Coli* の増殖が特に抑制せられると言う事はなかつた。但し、結核菌と共に培養した場合と非抗酸菌、鳥型菌と共に培養した場合とを比較すると、前者において *Coli* の発育は幾分劣るようであつた。

Coli に比較すると *C. alb* の増殖については甚だ興味ある成績が得られた。即ち継代1代目に於て *C. alb* の濁濁度は対照が 0.04 であるのに対し、結核菌と共棲せしめた場合には 0.38 より 0.70 に及ぶ高い値を示す事が注目される。然しこの事は非抗酸菌との共棲においては見られず、濁濁度はこの場合それぞれ 0.02 及び 0.08 を示すに過ぎない。同じく継代2代目においても、対照が 0.06 であるのに対し、結核菌と共棲した場合の濁濁度は、0.20~0.60 鳥型、*M. phlei* との共棲では 0.05、0.09 の値を示し、いずれの場合も結核菌と共棲せしめた場合に極めて著明な増殖が認められる。但し強毒菌仲野、H 37 Rv株、弱毒菌今村株、無毒株 H 37 Ra 及び BCG 相互の間には *C. alb* の増殖に対し差のある態度は見られなかつた。

III) 鳥型及び非抗酸菌各株と *C. alb* との共棲実験

II) の実験において、*C. alb* は結核菌と共に培養した場合旺盛な増殖を示すに反し、鳥型菌、*M. phlei* 等と共棲せしめても対照と差のない増殖しか見られない事を知つた。故に著者は後者、即ち鳥型菌4株、非抗酸菌7株について、より詳細にこれらと *C. alb* の増殖状態を調べて見た。その結果は第3表に示す如く結核菌と共棲せしめた場合とは丁度正反対な関係が見られた。即ち鳥型菌及び非抗酸菌は *C. alb* と共棲せしめても、その増殖が抑えられる事はなく、5日目に既に 100% 迄増殖し、*C. alb* の方は対照程度の増殖しか見られなかつた。之に反し BCG を共棲

第3表 ソートン培地に於ける鳥型菌、非病原性抗酸性菌と *C. alb* との共棲実験

培養日数	菌の増殖状態		対照	BCG	芝B 1160	芝B 327	Grass	Courmon	モルII	モルIII	Smegma	鳥型 細谷	鳥型 Av	鳥型 F	鳥型 竹尾
	菌+	菌のみ													
5日	C. alb	C. alb の増殖	0.03	0.36	0	0.02	0	0	0	0	0	0.01	0	0.05	0
	菌のみ	菌のみ													
10日	C. alb	C. alb の増殖	0.04	0.40	0	0.05	0.01	0	0	0	0	0.05	0.03	0.05	0.01
	菌のみ	菌のみ													

●：菌膜が液中に沈んだもの。
 △：菌膜が薄い状態を示したもの。
 菌と記載したのは抗酸性菌をさす。

第4表 抗酸性菌と Coli, Candida 等との共棲実験に於ける培地 pH の消長

共棲菌株	使用菌株 培養日数	H 37 Rv	青山 B	BCG	鳥 型	Smeigma	Phlei
		10 日 目	10 日 目	10 日 目	10 日 目	10 日 目	10 日 目
Coli		5.4	5.6~6.0	5.4~5.8	5.6~5.8	5.4	5.4~5.6
Staph		9.2	7.8~9.2	7.8~9.2	9.2	9.2	9.2
Prot		9.2	8.2~8.4	8.8~9.2	9.2	9.2	8.4~9.2
C. alb		9.2	9.2	8.4~9.2	9.0~9.2	9.0~9.2	9.2
Control		9.2	8.4~8.6	8.6~9.2	9.2	9.2	9.2

第5表 ソートン培地に於ける共棲菌の増殖状態と pH

接種菌株	培養日数	pH					接生菌種数
		1 日 目	3 日 目	5 日 目	8 日 目	10 日 目	
Coli	涵濁度	0.035	0.15	0.19	0.24	0.39	58 (-5)
	pH	8.2	6.2	6.0	5.8	5.4	
Staph	涵濁度	0	0	0	0	0.01	21 (-5)
	pH	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2	
Prot	涵濁度	0	0	0	0.01	0.01	40 (-5)
	pH	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2	
C. alb	涵濁度	0	0.02	0.02	0.03	0.06	8 (-5)
	pH	7.8	8.6	8.4	8.4	8.4	

しめると C. alb の増殖は著明に促進され、5日目に涵濁度 0.36、10日目に 0.40 を示すに至るが、一方 BCG の増殖には表の如く、ある程度抑制の傾向が認められている。

IV) 共棲実験中における培地 pH の変化について

細菌が増殖する場合、pH の影響によりその増殖が左右される事は言うまでもない。従つて Coli, C. alb と共棲せしめた場合に結核菌の増殖が阻止される事実もあるいは pH によつて説明し得るかも知れないと考え、共棲に伴う培地 pH の消長を調べて見た。その成績は第4表に示す如くである。表中の数字は何れも培養 10 日目における培養液の pH を測定したもので結核菌と Coli との共棲の場合のみ培地の pH は 5.4~6.0 という強い酸性側に変じているが、他の菌即ち Proteus, Staphylo, C. alb との共棲においては何れも pH 7.8~9.2 のアルカリ性に止まり、抗酸菌単独培養の対照も pH は 8.4~9.2 のアルカリ性であつた。次にソートン培地 (pH. 7.2) 内に共棲菌のみを培養した場合における pH の消長を日を追つて調べて見た。その成績は第5表に示す如くである。これに依れば、Staphylo 及び Proteus の二者はこの培地中において殆んど増殖し得ない事が判り、従つて pH は 8.2 のまま不変である。C. alb の場合は極めて僅かではあるが増殖の傾向が認められ、pH は 7.8 より 8.4 まで少しくアルカリ側に変化する。これにひきかえ Coli は四者中最も良好な

増殖を示し 24 時間目における涵濁度は 0.035 に過ぎなかつたがその後急激にこの値が上昇し 3 日目に 0.15、10 日目には最終の 0.39 を示した。これに伴い pH も著しく変化し、24 時間後の pH 8.2 から 3 日目には 6.0、10 日目には 5.4 と強く酸性側に転じている。

かくの如く抗酸性菌は C. alb と共に培養した場合、培養初期からアルカリ性の pH の影響を受けることが判つたが Coli と共に培養した場合には酸性側の影響を受けるのであるから、Coli 及び C. alb の共棲によつて増殖を抑えられる事実を、pH のみで説明する事は出来ないように思われる。一方 C. alb の増殖については、この菌が酸性培地においてよく発育すると言う上塚等¹²⁾の報告もあるので、Sauton 培地の pH を色々に変化せしめ、これが Candida の増殖に及ぼす影響を調べて見た。その成績は第6表に示す如くである。即ち Candida は pH が 3.4 から 8.2 位までの間に於ては大體において同じ程度の増殖を示し、特に pH による影響は認められない (但し pH が 2.0 以下になるかあるいは 9.2 以上になると増殖は著明に抑えられる)。従つて Sauton 培地においては、C. alb が特に酸性側においてよく発育すると言う傾向は認められず、結核菌との共棲によつて発育が顕著に促進される事実も pH だけによつて説明することは出来ないと思える。

第6表 ソートン培地中に於ける *C. alb* の増殖と pH との関係

pH	培養日数			
	1日目	3日目	7日目	10日目
2.0	0	0	0	0
	0	0	0	0
	0	0	0	0
3.4	0.01	0.04	0.09	0.09
	0.01	0.04	0.09	0.09
	0.01			0.10
4.6	0.01	0.05	0.10	0.10
	0.01	0.06	0.10	0.10
	0.02			0.10
6.2	0.02	0.04	0.09	0.09
	0.02	0.05	0.09	0.09
	0.02			0.11
7.4	0.02	0.06	0.11	0.10
	0.02	0.06	0.11	0.11
	0.03			0.11
8.2	0.02	0.03	0.12	0.10
	0.02	0.03	0.12	0.10
	0.02			0.10
9.2	0.02	0.02	0.02	0.03
	0.02	0.02	0.02	0.04
	0.02			0.05

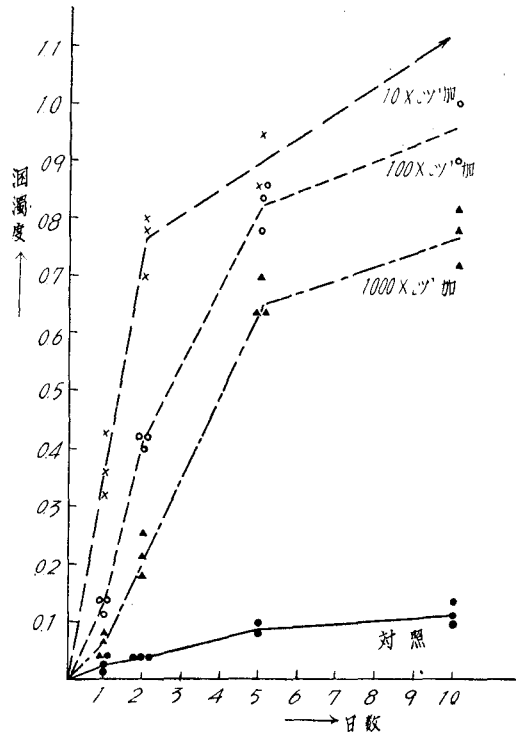
表中の数字は *C. alb.* の濁濁度を表わす。

V) ツベルクリンの *coli.* 及び *C. alb* の増殖に及ぼす影響

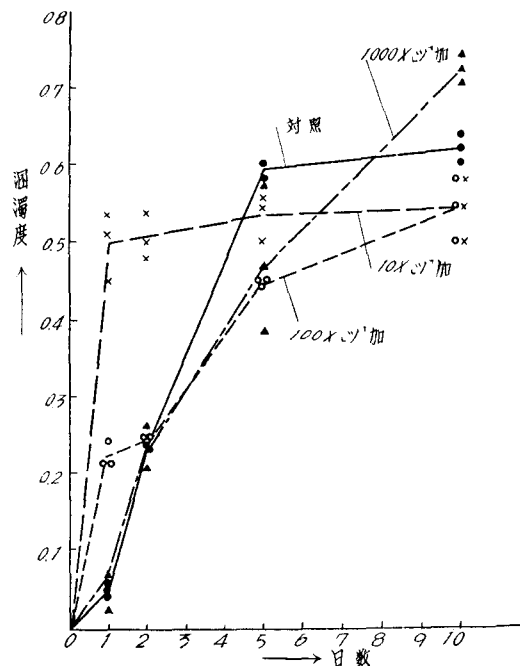
C. alb が結核菌との共棲によつて著明に増殖する事を知つたので次に結核菌の菌体成分、代謝産物、その他を含むツベルクリン(以下ツ.と略記す)が *C. alb.* 及び *Coli* の増殖にどのような影響を及ぼすかを調べて見た。

即ちツ.をソートン培地にて稀釈して10倍ツ.、100倍ツ.、1000倍ツ.を作り(pHは7.2に調製)、これに *Coli.*、*C. alb* を接種し、日を追つて濁濁度を測定した。その成績は第7表に示す如くであり、之を图示したものが第2図及び第3図である。即ち第2、第3図は各々 *C. alb.*、*Coli* の増殖に及ぼすツ.の影響を图示したものである。第2図から明らかごとくツ.は著明に *C. alb* の増殖を促進する。即ち対照は培養日数を追つても、殆んど増殖傾向が見られないのに反し、ツ.を加えた場合にはツ.の濃度が増加するに従つて、菌の増殖も亦著明に増大するのが見られた。*Coli* に対しても濃いツベルクリン(10倍、100倍)はその培養初期に於て調べると明らかに菌の増殖を促進せ

第2図 *C. alb* の増殖に対するツベルクリンの影響



第3図 *Coli* の増殖に対するツベルクリンの影響



第 7 表 Coli, C. alb の増殖に対するツベルクリンの影響

培養日数 菌及び濃度	接種時	1 日	2 日	5 日	10 日	10 日目の 培養基の pH
10 倍ツ加 Coli	0	0.45 0.54 0.52	0.48 0.50 0.54	0.50 0.54 0.56	0.54 0.54 0.58	5.4
100 倍ツ加 Coli	0	0.22 0.22 0.24	0.24 0.24 0.23	0.45 0.44 0.45	0.54 0.58 0.50	5.8
1000 倍ツ加 Coli	0	0.05 0.07 0.02	0.21 0.26 0.23	0.58 0.38 0.47	0.74 0.72 0.70	5.8
対 照 Coli	0	0.04 0.05 0.05	0.26 0.24 0.24	0.58 0.60 0.46	0.62 0.60 0.64	5.6
10 倍ツ加 C. alb	0	0.32 0.44 0.36	0.78 0.76 0.80	1.2 0.95 0.85	1.5 [*] 1.4 [*] 1.3 [*]	8.6
100 倍ツ加 C. alb	0	0.14 0.11 0.14	0.42 0.42 0.40	0.86 0.78 0.84	1.0 [*] 0.90 1.20	8.8
1000 倍ツ加 C. alb	0	0.08 0.07 0.04	0.18 0.26 0.22	0.64 0.64 0.70	0.82 0.78 0.72	8.6
対 照 C. alb	0	0.01 0.04 0.03	0.04 0.04 0.04	0.10 0.09 0.10	0.14 0.10 0.11	8.0

* 多少菌塊が存在す。

第 8 表 使用抗酸性菌株の世代時間について

菌 株	培養日数	接 種 単 位 生菌単位	世 代 間	菌 株	培養日数	接 種 単 位 生菌単位	世 代 間	
結 核 菌	仲 野	16(11)	7.7 (10 ⁻⁶)	26.5	芝 B 1150	4	6.3 (10 ⁻⁶)	3.1
	H 37 RV	16	5.0 (10 ⁻⁶)	19.3	非 芝 B 327	4	7 (10 ⁻⁶)	4.1
	青 山 B	13	23.3 (10 ⁻⁶)	20.8	病 原 性 菌	4	5.7 (10 ⁻⁶)	5.2
	今 村 B	9	5.7 (10 ⁻⁶)	19.3	Courmon	4	21 (10 ⁻⁶)	3.4
	B C G	7	5.3 (10 ¹⁶)	16.8	抗 酸 性 菌	4	16 (10 ⁻⁶)	4.1
鳥 型 菌	鳥型竹尾	4	3.6 (10 ⁻⁶)	3.5	モ ル II	4	11.3 (10 ⁻⁶)	4.7
	F	4	20 (10 ⁻⁶)	3.4	モ ル III	4	59 (10 ⁻⁶)	4.2
	A V	4	18.6 (10 ⁻⁶)	2.7	Smegma	4	29.3 (10 ⁻⁶)	3.5
	細谷	3	23.7 (10 ⁻⁶)	3.4	Phlei	4		

しめる。即ち培養 24 時間後に 10 倍, 100 倍, 1000 倍ツ. に植えた Coli の増殖状態を比較して見ると, その濁濁度はそれぞれ 0.45~0.52, 0.22~0.24, 0.02~0.07 であり対照の 0.04~0.05 に比較すると, 10 倍ツ. 及び 100 倍ツ. において約 5 倍乃至 10 倍の発育促進を認め得る。然し培養後 48 時間目になると 10 倍ツ. において促進が見られるのみで 100 倍ツ. 1000 倍ツ. は対照と同じ程度の増殖しか見られず 5 日間, 10 日間培養ではツ. のいずれの濃度についても対照との間にさしたる相違を認め得なかつた。

VI) 使用抗酸性菌の世代時間について

前述のごとく C. alb は結核菌との共棲において旺盛なる増殖を示すが, 鳥型菌, 非抗菌との共棲においては殆んど増殖し得ない。このことは結核菌の分裂速度と, 鳥型菌乃至非抗菌のそれとの間にかなりの差がある事にその原因の 1 つを求め得るかも知れない。即ち鳥型菌及び非抗菌は世代時間が短かいので速やかに増殖し, 従つて Sauton 培地中の栄養分を早期に奪つてしまう結果 C. alb の増殖を許さなくなるのではないかと言う可能性が考えられる。故に今後の研究の参考にする意味からも, 使用抗酸性菌のすべての菌株についてその世代時間を測定して見た。結果は第 8 表に示す如くである。即ち表のごとく結核菌 5 株の世代時間は 16.8 時間から 26.5 時間までの値を示したが鳥型菌 4 株及び非抗菌 7 株のそれは遅いものでも 5.2 時間早いものでは 3.1 時間であり, 前者の分裂速度は大体において後者の 5 倍乃至 6 倍を要する事が判つた。

総括ならびに考按

本実験に於ける目的の一つであつた強毒結核菌と弱毒結核菌の代謝上の相違点を, 共棲菌との共棲実験によつて知ろうとした試みは失敗であつた。即ち人型強毒菌仲野, H 37 Rv, 青山 B の 3 株及び人型弱毒菌今村, H 37 Ra 株の 2 株並びに BCG と Coli, C. alb との共棲に於て, これ等結核菌は凡てその菌膜が対照に較べて多かれ少なかれ抑制されることを知つたが, 強毒菌と弱毒菌との間において特に相違する点を見出すことはできなかつた。思うに結核菌の毒力という概念は非常に複雑なものであり, Dubos¹³⁾ も説くごとく host-parasite relationships によつて規定されるものであるから, 微生物並びに生体側の数多くの因子を考慮しなければならず, in vitro において簡単に強毒株と弱毒株を鑑別する方法のない事は当然であるかも知れぬ。近年, 結核菌の毒力を化学的に解明するものとして Bloch¹⁴⁾ の Cord factor, Choucrroun¹⁵⁾ の PMKo などが分離されているが, 彼等及び Spitznagel¹⁶⁾ からも明らかにしているごとく, これらの毒性物質は BCG その他の弱毒, 無毒菌株からも抽出し得るものであ

り, これを以て結核菌の生体内における毒力のすべてを説明する事はできない。動物を用いずして結核菌の毒力を判定せんとする試みが多数なされているにも拘らず, いまだ確定的な方法を見出し得ない現状においては, 今回行つた共棲実験が, これに役立ち得なかつた事も止むを得ないとしなければなるまい。然しながらこの実験を通じて我々は次の如き 2 つの興味ある知見を得る事が出来た。

その 1 つは抗酸性菌と共に培養した場合の C. alb の増殖についてである。即ち C. alb は結核菌と共に Sauton 培地に培養すると非常によく増殖するが, 非抗菌または鳥型菌との共棲においては殆んど増殖し得ない事を知つた。なお C. alb 自体も Sauton 培地中では殆んど増殖しないが, その理由としては (i) 培地中に Candida の必要とする発育因子乃至は増殖のエネルギーとなり得る物質が不足している為か, または (ii) 培地中の成分に Candida の発育を抑制する物質が存在する為か, などが考えられる。

従つて結核菌を共棲せしめる事により C. alb が旺盛なる増殖を営むに至つた理由としては (i) 結核菌の代謝産物その他が C. alb の発育増殖のエネルギーになる為か,

(ii) 結核菌の代謝中に C. alb に対する抑制物質が消費される為か, 又は (iii) 培地成分が結核菌により C. alb の利用し得る形に迄分解され, これを C. alb が利用する為か, 等の諸点を挙げる事ができよう。第 1 の可能性が最も考え易いと思われるが結核菌の代謝産物を含む培養濾液が C. alb の増殖を促進するという事実は既に Brygoo¹⁷⁾ 等も報告している所であり, 著者も本実験においてツ. が C. alb の増殖を促進する事を確めている。然しながらツ. にせよ培養濾液にせよ極めて複雑な成分より成るもので, 果してそのうちのどの部分が C. alb の増殖に真の役割を果しているかについて直ちに結論を下すことは困難である。

更に, 共棲現象に影響を及ぼす factor としてはもつと複雑な因子も考え得られる。例えば C. alb は自己の有する酵素作用によつて結核菌を攻撃し, これによつて破壊された結核菌体成分を栄養源として利用する事により増殖するのではないか, と言うような想像も可能かも知れない。かかる想像のもとにあつては, 代謝過程と言うよりも Candida によつて破壊されるか否かと言う点の方が重要になつて来よう。何れにせよ結核菌との共棲において Candida が増殖を促進される事は事実であるが, その mechanism に関しては, いまだ我々の知り得た所は極めて少い。この点は今後に残された問題として他日の発表に譲りたいと思う。

第 2 にこの実験から知り得た知見は Coli 及び C. alb

と共棲せしめた場合の抗酸性菌の発育に関するものである。即ち結核菌は *Candida* または *Coli* との共棲によりその増殖を抑えられるが、鳥型菌及び非抗菌ではこの事が起らない。後者がその増殖を妨げられない事は、総体的に言くと鳥型菌及び非抗菌の *in vitro* における強力な生活力を物語るものであろうが、供試結核菌の *Coli* 及び *C. alb.* に対する態度と対比して見ると、これのみでは説明つかない点が残されているように思われる。

先ず *Coli* を共棲せしめた場合について考えて見よう。*Coli* 自身はソートン培地によく増殖する。これに非抗菌または鳥型菌を共棲せしめてもその増殖は何等の影響を受けず、同時に非抗菌、鳥型菌の増殖も *Coli* の存在によつて何等左右されない。即ち *Coli* と非抗菌、鳥型菌はお互に indifferent に自己の増殖を営み、それぞれの代謝過程は他方の増殖を促進もしないし阻害もしない。この場合お互の菌が Sauton 培地中の同じ成分を同様に必要とするものならば、それを双方で奪い合つて相互に増殖が抑えられていい筈であるが、何れの菌の増殖も対照と差のない所を見ると、それぞれの栄養上の要求はあまり近似したものではないように見受けられる。これに反し、結核菌を *Coli* と共棲せしめた場合には前者の増殖がある程度抑えられる。その理由として考えられるのは、結核菌の分裂速度が *Coli* よりも遙かに遅いため、*Coli* によつて早期に発育に必要な物質が消費され結核菌の栄養分が不足するのではないかと言う事である。然し一方 *Coli* の発育を見るに非抗菌、鳥型菌と共に培養した場合に較べると幾分増殖度が落ちる。エネルギー源の消費と言う点から言えば、結核菌の世代時間は非抗菌、鳥型菌に較べて数倍遅いのであるから培地中の養分は遅くまで残されている筈である。また菌の内部呼吸を時間的に追つて見ても、著者⁴⁾、Ebina¹⁶⁾等が述べているごとく非抗菌、鳥型菌はこの菌が結核菌よりも高いし、乳酸脱水素酵素活性⁹⁾、catalase 並びに peroxidase 作用¹⁰⁾等総てについて非抗菌の方が強大である。従つて培養10日間に消費される培地中のエネルギーは、培養菌が結核菌の場合よりも非抗菌の場合の方が多量であると考えて差支えなからう。然るに実験結果を見れば、より多くエネルギー源が残されている筈の結核菌と共棲せしめた場合に *Coli* の発育は寧ろ悪い。かく見れば、この現象を単にエネルギー源の多寡だけで説明する事はできず、非抗菌、鳥型菌と結核菌との間に、なんらか代謝上の相違が存在する事を示唆するものではないかと考えられる。

次に *C. alb.* を共棲せしめた場合における抗酸性菌の発育について考えて見よう。*C. alb.* 自体は既に述べた如く Sauton 培地に於て殆んど増殖し得ない。従つてこれを非

抗菌、鳥型菌と共に培養した場合、後者の増殖に殆んど変化がない事は容易に理解し得られる。*C. alb.* を結核菌に共棲せしめた場合には、前述の如く前者の発育が促進され後者が多少抑えられる。*Candida* の発育が促進されることについては既に考察したが、この事と結核菌の発育が抑えられる事とは表裏一体をなすものであろう。即ち結核菌は非抗菌などよりも一層栄養上の要求が厳しい菌であるから *C. alb.* が活発に増殖する事によつて結核菌の増殖に対する条件が不利になつて来るであろうことは想像に難くない。

なおこの場合にも、元來 Sauton 培地に生え難い *C. alb.* に対し、結核菌の共棲はその増殖を促進せしめ、非抗菌、鳥型菌にはこの作用がないと言う事実は、やはりこれら2つの型の抗酸性菌株の間に、代謝上の相違がある事を示すものとする。

結 論

人型強毒株4株、同じく弱毒乃至無毒菌2株、BCG 及び鳥型菌4株、非病原性抗酸性菌8株を *Coli*, *Staphylo*, *Proteus*, *C. alb.* と共に Sauton 培地に培養し、抗酸性菌の代謝過程が異なるのに応じて共棲成績に差違が現われるか否かを観察した。また特に *Coli* 及び *C. alb.* については、その増殖に及ぼすツベルクリンの影響を検討した。得たる成績は次の如くである。

I) 抗酸性菌と大腸菌との共棲：結核菌は大腸菌との共棲によつてその増殖を抑えられるが、鳥型菌、非抗菌は共棲による影響を受けない。大腸菌自身は抗酸性菌と共に培養しても対照(単独培養)と殆んど差違のない増殖を示すが結核菌と共棲せしめた場合には、非抗菌または鳥型菌と共棲せしめた場合よりも幾分増殖が劣るようである。

II) 抗酸性菌と *C. alb.* との共棲：*C. alb.* は単独で Sauton 培地中に培養した場合殆んど増殖しないが、結核菌と共に培養すると極めて旺盛な増殖を営む。一方結核菌は *C. alb.* との共棲によつてその発育がある程度抑えられる。これに反し非抗菌または鳥型菌を *C. alb.* と共に培養した場合には、前者の方に良好な発育が見られ、*C. alb.* には少しの増殖促進も認められなかつた。

III) 強毒株、弱毒株間の差違：以上の実験を通じ、人型菌及び BCG の強毒株と弱毒株相互の間には、共棲成績に差違を認めなかつた。

IV) 抗酸性菌とブドウ状球菌または変形菌との共棲：共棲による相互の影響は認められなかつた。

V) *C. alb.* 及び大腸菌の発育に及ぼすツベルクリンの影響：*C. alb.* は常にツベルクリンによつて増殖を著しく促進される。大腸菌は培地に加えられたツベルクリン濃

度が高い場合には(1~10%),初期の間だけその増殖が促進される。

終りに、御指導ならびに御校閲を賜った恩師大原教授に深謝する。

文 献

- 1) Bloch. H: *Am. Rev. Tuberc.* 61, 270~271, 1950.
- 2) Wilson. F. J. et al: *Am. Rev. Tuberc.* 65, 187~193, 1952.
- 3) 占部 薫: *日本微生物学雑誌*, 27, 956~968, 1933.
- 4) 戸田忠雄他: *東京医事新誌*, 2891, 1361 ~ 1364, 昭 11.
- 5) 山村雄一: *日本臨床*, 12-11, 1050-1055, 昭 29.
- 6) 内藤虎雄: *広島医学*, 5-10, 379-383, 昭 27.
- 7) 内藤虎雄: *広島医学*, 5-10, 383-385, 昭 27.
- 8) 今野 淳: *抗酸菌病研究雑誌*, 9-1, 1-9, 昭 28.
- 9) 横井敏夫: *結核の研究*, 第5集, 17~25., 1956.
- 10) Youmans G. p. et al: *J. Bact.* 58, 247~255, 1946.
- 11) 新明美仁他: *結核の研究* 第3集 50~56, 1955.
- 12) 上塚昭他: *日新医学* 39(10), 553~559, 昭 27.
- 13) Dubos R. J: *細菌細胞* (川喜田愛郎訳) 178~182, 1952.
- 14) Bloch. H.: *J. Exp. Med.* 91, 197~217, 1950.
- 15) Choucroun N: *C. R. Acad. Sci.* 224, 104, 1946. (Choucroun. N.: *Science.* 105, 46~47, 1947 より引用)
- 16) Spitznagel J. K. et al: *J. Exp. Med.* 101, 291~311, 1955.
- 17) Brygoo, E. R. et al: *Ann. de la Institute Pasteur* 81, 107~109, 1951.
- 18) Ebina, T. et al: *Tohoku J. Exper. Med.* 31, 60~71, 1937.