



Title	抗酸性菌とCandida albicansとの共棲に関する研究(III)
Author(s)	横井, 敏夫; YOKOI, Toshio
Description	
Citation	結核の研究, 7, 18-25
Issue Date	1958-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/26626
Type	departmental bulletin paper
File Information	7_P18-25.pdf



抗酸性菌と *Candida albicans* との共棲に関する研究 (Ⅲ)

横 井 敏 夫

(北海道大学結核研究所細菌部 主任 大原 達教授)

緒 言

著者は前報²⁾に於て、抗酸性菌と *Candida albicans* を同時培養した場合における両種細菌の増殖状態、抗酸菌培養濾液を基質とする *C. alb* の呼吸とその増殖促進作用との関係、ツベルクリンに含まれる *C. alb* 増殖促進物質の性状等について種々研究を行つた。今回はこれに引続き、主として次の諸点を検討して見た。

i) 結核菌に *C. alb* を共棲せしめた場合結核菌の発育が幾分抑制されるが、この事実の詳細とその原因の追究について

ii) 抗酸性菌の中性水又はアルカリ抽出物の *C. alb* の増殖に及ぼす影響について

iii) 非病原質抗酸性菌、鳥型菌の後期培養濾液中において *C. alb* の増殖が不良であることの原因について

以上について得たる結果をここに報告したい。猶本論文の表題における「共棲」とは「同時培養」の意味である。

実験方法

1) 使用菌株、培地、培養法、菌の増殖度測定：すべて前二報²⁾に同じ。

2) 抗酸菌の水(又はアルカリ)抽出液の作製法：結核菌は Kirchner 又は Sauton 培地に4週間より8週間培養したもの、*M. phlei*、鳥型菌は同じく10日間より14日間培養したものをを用いた。これらを蒸留水で充分洗滌した後、10倍量のエーテル、アルコール等量液で脱脂し、菌体を洗滌後これに20倍量の蒸留水又は0.01N NaOHを加えて37°C 孵卵器内に数カ月放置する。用に臨み、この液体をザイツで濾過したものが本実験における中性水又はアルカリ抽出液である。

3) 透析に関する実験：結核菌培養濾液並びに抗酸菌の中性水又はアルカリ抽出液を何れも1/10量迄濃縮した後、10倍量の蒸留水で2日間透析し、これを内液と外液とに分けた。透析内液は流水で2日間透析後、蒸留水で更に24時間透析し、その内容を原量に迄濃縮して透析内液原

液とした。透析外液はそのままこれを10倍液と見做し、何れも Sauton 培地で適当に倍数稀釈して実験に用いた。

実験成績

I) 種々なる培養日数の結核菌濾液より得た透析内液及び外液の *Candida* 発育に及ぼす影響の比較

H 37 Rv 株の Sauton 10日、20日、60日培養濾液からそれぞれ10倍、100倍、1000倍透析外液及び10倍、100倍透析内液を作り、これに *C. alb* を接種して発育状態を調べた。その成績は第1表に示す如くである。全体を通じて透析外液の方に顕著な増殖が見られ、透析内液中での発育は劣るようであるが、それでも対照(Sauton 培地)よりは可なり良好な発育を認めた。濾液採取日数との関係を見ると、透析内液では20日間培養濾液と60日間培養濾液との間において *C. alb* の増殖に差を見なかつたが、透析外液では20日目のものより60日目の方が *Candida* に対しより良好な発育を与えた。尚10日目の濾液と20日目のものとの間には差が見られなかつた。

II) 結核菌に *C. alb* を共棲せしめた場合の結核菌の生菌単位とその染色像について

i) 生菌単位の消長：H 37 Rv 株に *C. alb* を共棲せしめた場合、*C. alb* が顕著に増殖し、H 37 Rv 株の発育は単独培養のそれに比較して幾分劣ることを既に観察したので、この場合における H 37 Rv 株の生菌単位の推移を定量培養によつて調べて見た。第2表はその結果を示すものである。これに依れば培養初期における生菌単位は共棲の場合と単独培養の場合との間に差を認めないが、培養後期になると共棲時の生菌単位は著明に落ちて来る。即ち培養5日目、14日目における H 37 Rv 株の生菌単位は *C. alb* と共棲の場合それぞれ 16.3×10^5 、 20×10^6 で単独培養時のそれと大差ない価を示したが、培養24日目になると共棲時には 14.3×10^4 、単独培養時には 11.3×10^6 と order において2桁違つて来る。即ち培養後期になると *C. alb* と共棲せしめられた結核菌の発育は菌膜の外観から見て幾分抑えられていると同時に菌膜中には可なりの死菌を含んでいるものと考えられる。

第1表 種々なる培養日数の結核菌濾液より得た透析内液及び外液の *Candida* 発育に及ぼす影響の比較

濾液の種類	濾液日数	希釈倍数	<i>C. alb.</i> の 増 殖		
			培 養 日 数		
			2 日	4 日	6 日
透	10日	10 倍	0.05 0.05 0.04	0.09 0.08 0.08	0.16 0.15 0.13
		100 倍	0.16 0.15 0.15	0.34 0.32 0.31	0.45 0.44 0.43
		1000倍	0.22 0.20 0.18	0.33 0.32 0.31	0.36 0.33 0.32
析	20日	10 倍	0.04 0.05 0.06	0.10 0.10 0.09	0.12 0.10
		100 倍	0.20 0.19 0.18	0.38 0.36 0.34	—
		1000倍	0.21 0.20 0.19	0.38 0.36 0.36	0.40 0.38 0.38
外	60日	10 倍	0.38 0.37 0.32	0.48 0.47 0.47	0.52 0.50
		100 倍	0.27 0.22 0.20	0.52 0.52 0.48	0.78 0.76
		1000倍	0.20 0.19 0.18	0.36 0.34	0.38 0.38 0.38
液	20日	10 倍	0.11 0.11 0.09	0.20 0.19 0.18	0.28 0.26 0.25
		100 倍	0.07 0.07 0.07	0.12 0.11 0.10	0.15 0.14 0.14
		1000倍	0.06 0.06 0.06	0.15 0.15 0.14	0.20 0.24 0.22
内	60日	10 倍	0.02 0.02 0.02	0.10 0.08 0.08	0.13 0.12 0.12
		100 倍	0.02 0.02 0.02	0.10 0.08 0.08	0.13 0.12 0.12
		1000倍	0.02 0.02 0.02	0.10 0.08 0.08	0.13 0.12 0.12
対 照 (ゾートン培地)			0.01 0.01 0.02	0.02 0.02 0.02	0.02 0.03 0.03

ii) 染色像：H 37 Rv 株を単独培養した場合と、*C. alb.* と共棲せしめた場合との染色像を Ziehl-Neelsen 染色法に依り比較すると、一般に単独培養の場合は、菌の

形状が太く短かく、赤染菌が大部分を占めるに反し、共棲時には菌の形状が細く長いものが多く、染色像では 14 日目位になると顆粒状をなした淡青染菌及び淡赤染菌が増加

第2表 結核菌に *C. alb.* を共棲せしめた場合における結核菌生菌単位の消長について

接 種 菌	培 養 日 数	結核菌の増殖状態	結核菌の生菌単位 (1mg中)	<i>C. alb.</i> の 増 殖
H 37 Rv + <i>C. alb.</i>	5 日	+++	16.3×10 ⁵	0.80 0.73 0.72
H 37 Rv	5 日	+++	13.7×10 ⁵	
<i>C. alb.</i>	5 日			0.02 0.02 0.01
H 37 Rv + <i>C. alb.</i>	14日	+++	20×10 ⁶	0.95 0.90 0.85
H 37 Rv	14日	+++	8.3×10 ⁶	
<i>C. alb.</i>	14日			0.03 0.02 0.02
H 37 Rv + <i>C. alb.</i>	24日	+++	14.3×10 ⁴	1.1 1.1 1.1
H 37 Rv	24日	+++	11.3×10 ⁶	
<i>C. alb.</i>	24日			0.03 0.02 0.02

し、これと同時に形態の細状化、長化した芽染菌も目立つて来る。但し 5 日目位までは染色像において対照と差を見ない。

III) 結核菌と *C. alb.* との同時培養時の濾液内における結核菌の増殖状態

H 37 Rv 株と *C. alb.* とを Modified Kirchner 培地中に同時培養し、H 37 Rv 株の発育が単独培養時のそれに比して幾分劣つて来る時期に濾液を取りこれに改めて H 37 Rv を培養した。対照としては同じ時期における H 37 Rv 株単独培養時の濾液、及び菌を植えない Modified Kirchner 培地の両者を選び、これにそれぞれ H 37 Rv 株を接種して三者の発育を比較した。その成績を菌膜の大きさや乾燥菌量の重さとの両面について記録したものが第 3 表である。これに依れば発育した菌膜の大きさは三者共大

第3表 結核菌と *C. alb.* との同時培養後期濾液内に於ける結核菌の増殖状態

接 種 菌 株	H 37 Rv 株 の 発 育	
	菌 膜 の 状 態	平 均 乾 燥 菌 量
H 37 Rv + <i>C. alb.</i>	冊 冊 冊 冊	22 mg
H 37 Rv	冊 冊 冊 冊 冊 冊	48 mg
対 照	冊 冊 冊 冊 冊 冊	59 mg

体同じであつたが、*C. alb.* を共棲せしめた培養濾液中における H 37 Rv 株の発育は菌膜が非常に薄く（この事は結核菌に *C. alb.* を共棲せしめた場合常に観察された）従つて乾燥菌量も他の二者に較べ約半分であつた。この原因が共棲培養濾液中の栄養分の不足によるものか有害物質の産生によるものかは審らかでないが、とにかく表に見る如

第4表 *C. alb.* の増殖に対する抗酸性菌中性水抽出物の影響

抗 酸 菌 の 種 類	液 の 稀 積	<i>C. alb.</i> の 増 殖	
		培 養 日 数	
		2 日	4 日
仲 野 株	10 倍	0.25	0.48
		0.25	0.46
		0.20	0.45
	100 倍	0.20	0.44
		0.15	0.42
		0.13	0.41
BCG	10 倍	0.32	0.43
		0.31	0.42
		0.27	0.42
	100 倍	0.27	0.39
		0.27	0.39
		0.25	0.39
<i>M. phlei</i>	10 倍	0.39	0.62
		0.37	0.62
		0.36	0.58
	100 倍	0.10	0.29
		0.10	0.26
		0.10	0.26
鳥 型 菌	10 倍	0.31	0.30
		0.27	0.30
		0.27	0.28
対 照		0.02	0.04
		0.03	0.03
		0.03	0.03

く対照の二者では H 37 Rv の平均乾燥菌量がそれぞれ 48 mg, 59 mg であるに対し、*Candida* を共棲せしめた培養濾液における乾燥菌量は 22 mg に過ぎなかつた。

IV) *C. alb.* の増殖に対する抗酸菌の中性水又はアルカリ抽出物の影響について

実験 I) において、H 37 Rv 株の後期培養濾液（60 日目）より得た透析外液が、培養初期のそれよりも *Candida* に対しより高い増殖促進作用を示す事を観察した。この事実は結核菌の自家融解に伴い後期になつて培地中に流出して来る菌体成分が、*C. alb.* の増殖に対し何等かの影響を持つのではないかと云う想像を我々に懐かしめる。そこで著者は実験方法の項で述べた如き方法で結核菌から中性水及びアルカリによる菌体抽出液を作り、これを Sauton 培地で適当に稀釈してこれに *C. alb.* を培養した。第4表は抗酸菌各株の中性水抽出物に *C. alb.* を培養した場合の成績である。この表から明らかな様に仲野株、BCG、*Phlei*,

第5表 BCG の中性水抽出液中に含まれる *C. alb.* 増殖促進物質の透析性について

種 類	稀 積	<i>C. alb.</i> の 増 殖		
		培 養 日 数		
		2 日	4 日	6 日
中 性 水 抽 出 液	10 倍	0.32	0.43	0.56
		0.31	0.42	0.54
		0.27	0.42	0.52
	100 倍	0.27	0.39	0.45
		0.27	0.39	0.45
		0.25	0.39	0.37
1000倍	0.08	0.16	0.18	
	0.07	0.14	0.17	
	0.07	0.12	0.17	
透 析 外 液	10 倍	0.35	0.60	0.80
		0.33	0.58	0.76
		0.32	0.54	0.74
	100 倍	0.26	0.45	0.56
		0.25	0.43	0.56
		0.24	0.42	0.52
1000倍	0.10	0.21	0.24	
	0.09	0.21	0.23	
	0.08	0.18	0.21	
透 析 内 液	10 倍	0.14	0.29	0.42
		0.12	0.29	0.41
		0.12	0.26	0.33
	100 倍	0.08	0.21	0.26
		0.08	0.20	0.25
		0.08	0.19	0.25
対 照		0.01	0.05	0.06
		0.01	0.03	0.06
		0.01	0.03	0.04

鳥型菌の菌体抽出液は何れも *C. alb* の発育を促進せしめる。

V) 中性水抽出物に含まれる *Candida* 増殖促進物質の透析性について

上述と同じ方法で BCG から抽出した中性水抽出液を透析によつて内液と外液とに分け、これを Sauton 培地で適当に希釈した後 *C. alb* を培養した。その成績は第 5 表の如くである。これに依れば透析外液には透析前の中性水抽出物と同程度に強い *C. alb* 増殖促進作用が見られ、従つて *C. alb* の増殖を促進する物質は主として透析外液に存在するものと考えられる。但し内液にも程度の差はあれ同様の作用のある事が認められた。

VI) 鳥型菌培養濾液の *C. alb* に対する発育増進作用の検討

我々は前報²⁾において *C. alb* の発育が非抗菌、鳥型菌の初期培養濾液によつて可なり促進されるのに、後期の濾液によつては殆んど促進されない事を知つた。この事実に対しては、抗酸菌の発育に伴う培地中のエネルギー源不足を原因の 1 つとして挙げ得るように思われるのでこれを検討する為次の実験を行つた。即ち Sauton 培地に鳥型菌を植え、培養 3 日目、5 日目、12 日目及び 36 日目における菌の発育状況を菌膜の大きさ、生菌単位及び乾燥菌量の 3 点について観察すると共に上記の培養日にその濾液を採取し、次の如くこれに *C. alb* を培養した。各培養濾液ごとに、その一部はそのまま *Candida* 培養用培地として使用し、他の一部には鳥型菌の発育に伴うエネルギー源不足を補う意味で 9 倍量の Sauton 培地を加えた後同様に *Candida* を培養した。第 6 表はその成績を示すものである。

先づ鳥型菌の発育状況について観察するに、菌膜は培養 3 日目から 5 日目位までは次第に大きくなるが、5 日以後は増大の傾向を認めない。生菌単位は培養 5 日目が最高で、12 日目には稍落ちて来るが平均乾燥菌量は後者の方が幾分多い。但しその差は何れも僅少なため必ずしも有為な差とはいひ得ないかも知れないが、第 I 報で測定したように鳥型菌の世代時間が大体 3 時間半位である事を考え併せれば、培養後鳥型菌が最大の菌数に達するまでの期間は恐らく 5~7 日位でそれ以後は次第に死滅する菌が多くなつて来るものと考えて大過あるまい。培養 36 日になると乾燥菌量も減つて来るし生菌単位も低くなつて来る。

一方鳥型菌培養濾液に *C. alb* を接種した成績を見ると、濾液そのままでは古い培養濾液に植えた場合程 *C. alb* の発育はよくない。3 日培養濾液が最も著明に *Candida* の発育を増進せしめ、5 日培養濾液がこれに次ぎ、12 日培養濾液に至ると著しく発育促進作用は失われる。36 日目

第 6 表 鳥型菌の増殖状態

培養日数	菌膜の状態	平均乾燥菌重量	生菌単位 (1 mg 中)
3 日	卍 卍	112 mg	
5 日	卍 卍	904 mg	20×10^6
12 日	卍 卍	2150 mg	6×10^6
36 日	卍 卍	1643 mg	6.4×10^6

鳥型菌培養濾液内の *C. alb* の増殖状態

濾液の培養日数	濾液の稀 釈	<i>C. alb.</i> の 増 殖		
		2 日間	3 日間	5 日間
3 日	原 液	0.14 0.11 0.10	0.52 0.50 0.48	1.0 0.95 0.90
	10 倍	0.26 0.22 0.21	0.45 0.44 0.44	0.66 0.66 0.58
5 日	原 液	0.12 0.10 0.10	0.49 0.36 0.28	0.80 0.80 0.80
	10 倍	0.41 0.38 0.38	0.52 0.54 0.54	0.64 0.64 0.64
12 日	原 液	0.07 0.06 0.03	0.12 0.11 0.10	0.13 0.10 0.10
	10 倍	0.23 0.21 0.18	0.44 0.43 0.42	0.64 0.60 0.54
36 日	原 液	0.05 0.05 0.04	0.16 0.16 0.16	0.34 0.34 0.33
	10 倍	0.18 0.17 0.16	0.48 0.47 0.41	0.58 0.56 0.54
対 照		0.02 0.01 0.01	0.01 0.01 0.01	0.03 0.02 0.02

のものは 12 日のものより稍発育が良いようであるが、これはこの時期の生菌単位が減少している事から自家融解した菌が多く従つてその菌体成分が何か *Candida* の発育に役立つのではないかと、とも想像される。何れにせよ培養日数の古い濾液程 *Candida* に対する発育増進能力が落ちて来ることは表から明らかであろう。然るにこれ等の濾液に新しく 9 倍量の Sauton 培地を補給した場合にはど

の培養日数のものも殆んど同程度に *C. alb* の発育を促進せしめることが分つた。この事実から、後期培養濾液内において *C. alb* の発育が不良であることの原因は、栄養分の不足にあるように考えられるが必ずしもそうとは断言出来ないものがある。これについては後に考察したい。

考 察

上記の実験結果に基づき緒言の項で述べた3つの問題点について考察を加えて見よう。

1) *C. alb* との共棲によつて結核菌の発育が抑えられることについて。この原因としては次の3つの可能性が挙げられよう。即ち第1には *C. alb* の増殖に伴つて培地成分が消費され、その結果結核菌の必要とするエネルギー源に不足を来すこと、第2には *C. alb* の代謝産物が結核菌の発育に有害であること、第3には兩種細菌の代謝が相互に及ぼし合う複雑な影響が結核菌の発育に不利な状態を作ること、などが原因として考えられる。これらの点については既に第1報において簡単に触れたが、茲では上記の実験成績を基にしてもう一度考えて見たいと思う。

第1に挙げた可能性は原因として最も考え易いものである。結核菌に限らず、一般に或る細菌が他の細菌と共に培養された場合、それ単独に培養された場合よりも発育が悪いと云う事は寧ろ当然なことかも知れない。然しこの事は、両方の細菌の栄養上における要求が似かよつていて同一培地内のエネルギー源を互に奪い合う事から起る筈である。然るに結核菌と *Candida* との場合には栄養上の要求においてさほど近いものがあるとは考えられない。結核菌が好んで増殖する Kirchner 培地にせよ、Sauton 培地にせよ *C. alb* はこれらの中で殆んど発育し得ない。即ち結核菌の必要とする栄養源を *C. alb* はそれほど必要としないように思われる。

C. alb が結核菌との共棲によつて旺盛な発育を営む機序については第1報において考察したのでここでは省略するが、何れにせよ *C. alb* がその増殖の途次において Kirchner 乃至 Sauton 培地成分を自己の栄養源として活潑に利用するとは考え難い。但し *C. alb* が Kirchner 又は Sauton 培地に発育し得ないのは、これらの培地成分のすべてを利用し得ない為ではなく、そのうちのあるものが *Candida* にとつて有害なために大部分を利用し得る能力があるにも拘らず発育を抑えられて居るのかも知れない。この場合若し結核菌によつてこの有害物質が除かれるならば Kirchner 又は Sauton 培地中の他の成分を *Candida* は活潑に利用し得るようになると思ふ事も可能である。然りとするならば *Candida* の世代時間から見て培地中の栄養分は可成り早期に使われる筈であり、従つて

培養の初めから結核菌の発育に悪影響を及ぼす筈である。然るに実験 II) に於て観察した如く結核菌は、培地中に *C. alb* を共棲せしめたと否とに拘らず、14日目頃まではその発育に何等差異を認めない(第2表)。即ち培地中において *C. alb* が既に旺盛な発育を営んでいるにも拘らず、少しもその影響を受けていない。この事は結核菌の増殖に利用される栄養源と *C. alb* の増殖に利用される栄養源とが別個のものである事を物語るように思われる。然一方において第2表は *C. alb* との共棲において培養後期になると結核菌の生菌単位が著明に落ちて来ることを示している。更に又実験 III) において観察された如く、共棲時の後期培養濾液、即ち上述の結核菌生菌単位が減少しはじめて来た時期の濾液に再び結核菌を培養して見ると菌膜は薄く、その乾燥菌量の半分に満たなかつた(第3表)。これらの事実並びに染色像においてこの時期は退行型が目立つて来ること等は、何れも後期における培地の条件が結核菌にとつて不利であることを示している。

これを要約するに結核菌は *C. alb* との共棲により、後期にはその発育に不利な状態が作り出される。然しこの不利な状態が *C. alb* の減殖に伴うエネルギー源の不足に帰因するものとは断言出来ない。何となれば *C. alb* は結核菌培地に含まれる主要成分をそれ自体では殆んど利用しないからであり、利用するとするならばその分裂速度から見てもつと早期に結核菌に影響を与えてよい筈だからである。

かく見ると2週間を過ぎた後になつて結核菌の発育が悪くなるのは、この時期になつて量的に多くなつて来た *C. alb* の自家融解産物、或いは代謝産物が結核菌にとつて有害なのではあるまいか、という第2の可能性を考慮する必要が生じて来る。この点については特に実験成績の項に記載しなかつたが、Sabourand 培地に *C. alb* を3週間培養して得た濾液に Kirchner 培地を加え、結核菌発育のエネルギーに不足なからしめた後にこれに結核菌を殖え、対照と比較して、その発育が抑えられるか否かを調べた。その結果は対照と何等差を見なかつたので上述の可能性は否定し得るように思われる。

以上の如く考察すれば結核菌の発育が *C. alb* の共棲によつて或る程度抑制されることの Mechanism は未だ不明という外はない。実験成績から見て結核菌の発育に何か抑制的な状態が招来されている事は疑いないが、これには生物学的に尚不明な色々な因子が関係しているに違いない。*Candida* と結核菌と云う種類の異つた菌の複雑な相互の代謝その他が互に影響し合つて居るものと思ふべきであり、これ等が更に究明されなければ真の Mechanism は解明し得ないものと思われる。

2) 結核菌の中性水又はアルカリ抽出液の *C. alb* に対する増殖促進作用について。実験 I) において培養日数を異にする色々な結核菌濾液に *C. alb* を培養して見た結果、初期の培養濾液よりも後期のそれの方がより顕著に *Candida* を増殖せしめることが分つた。即ち各培養日数の濾液を透析してその外液を 10% の割合に含む培地を作り、これに *Candida* を 6 日間培養した成績を見ると、10 日目の培養濾液に殖えたものでは *C. alb* の濁濁度が平均 0.14, 20 日目のものでは 0.11, 60 日目のものでは 0.51 を示し (第 1 表), 前二者においては殆んど差を見ないが、60 日の長期間に亘つて結核菌を培養した場合の濾液は数倍も優れた *Candida* 発育促進能力を持つことが観察された。この時期になると最早結核菌はその増殖時期を過ぎ既に死滅期に入っているのであるから濾液中に多量の自家融解成分が含有されている事は疑いない。これに先立つて見られた染色像における退行型の出現も Baisden³⁾ の云う如く autolysis への移行の姿と解釈し得るし、生菌単位の測定も培養後期には生菌数の少いことを示している。従つて後期培養濾液が顕著に *C. alb* の増殖を促進すると云う上述の成績は、結核菌の菌体成分が *Candida* の好適な栄養源として利用され得ると云う可能性を物語るものと云えよう。この事を実証するために著者は実験 IV) において抗酸菌の各株から中性水又はアルカリによる菌体抽出液を作り、*Candida* の増殖に及ぼすその作用を調べて見た。われわれの抽出液は大體 Baisden³⁾ の方法に従つて調製されたものであり、数カ月の間抗酸菌の脱脂菌体を中性水又は 0.01 N の NaOH 中に漬け解離器中に放置したものであるから菌体中から溶媒に融け出した菌体成分を多量に含んでいることは云う迄もない。

かくして作つた抗酸菌の中性水菌体抽出液は第 4 表に示す如く strain の如何を問わず一様に *Candida* 発育促進作用を示した。これらの抽出液中に含まれる促進物質の性状は透析性から見て恐らく分子量の小さいものであり、加熱によつてその作用を減じない事から耐熱性の物質と考えられる。従つてツベルクリン中に含まれる *C. alb* の増殖促進物と生物学的に云えば類似的の性状を持つ様に思われるが、化学的にこれが同一の物質であるか否かは甚だ疑問である。autolysis による菌体成分だけについて論ずれば培養初期の濾液よりも培養後期の濾液の方が量的に勝っている筈である。然るに我々は前報²⁾ において鳥型菌 (又は *M. phlei*) の培養濾液に *C. alb* を培養した場合、その発育を著明に促進し得るのは初期の培養濾液のみに限られ、後期の濾液が示す促進作用は甚だ低いものである事を観察した。この場合 *C. alb* が鳥型菌の初期培養濾液において旺盛な発育を営む機序には恐らく鳥型菌の代謝産物そ

のものか、あるいはこれに関連した何らかの因子が関与しているものと想像される。そうでなければ autolysis がいまだ起つていないような初期の濾液においてかえつて *C. alb* の発育が促進されると云う事実は説明出来ない。勿論培養初期といえども菌の自家融解が全く無いとは云い得ないが、全体的に見れば殆んど無視し得べきものと見てよからう。

一般に細菌体を形作る主要な物質が蛋白質である以上、その自家融解産物中には種々の程度に分解された各種アミノ酸乃至その終末産物が多量に含まれている事は云うまでもない。かかるアミノ酸その他が他の細菌のエネルギー源として利用され得る事も亦当然予想される所であり、結核菌の菌体抽出液が strain の如何を問わず *C. alb* の増殖を助ける事は何等不思議でない。従つて *C. alb* が鳥型菌や *M. phlei* と共に培養された場合殆んど増殖し得ないにも拘らずこれらの菌体抽出物中では著明に増殖する事実も互に何等矛盾する現象ではなからう。抗酸菌の菌体抽出液が *Candida* の発育を助長するのは単にそれが栄養源になり得ると云う非特異的な factor によるものであり、抗酸菌中の或る strain が特に *Candida* の発育を促進する事実は、その菌に個有な代謝過程が関係する謂わば特異的な factor に基くものである。第 I 報において考察した如く *C. alb* が結核菌 (人型菌各株及び BCG) との共棲によつて活潑に増殖し、非抗菌、鳥型菌との共棲において増殖し得ないと云う事実は、恐らくこれら菌株間に見られる代謝過程の差違によつて説明し得べき事柄であろう。この点から云えば、*C. alb* は鳥型菌との共棲において増殖し得ないのに、鳥型菌の初期の培養濾液がその増殖を助長すると云う前報²⁾ の報告は多少矛盾するものがある。然し鳥型菌の濾液という静的なものと、現実に菌が増殖している動的な共棲とは、そこに何らかの相違があつても差支えないのではなからうか? 後者の場合には、培地中に出された産物だけでなく互に生命力を持つ 2 つの菌種の酵素作用、増殖に伴う pH の影響、その他複雑な因子がからみ合つて来るものと考えればある程度理解し得られない事もないと考える。

以上要するに、抗酸性菌の菌体抽出液はその strain に関係なく何れも *C. alb* の発育を促進せしめる。然し結核菌培養濾液に見られる *Candida* の発育促進物質と中性水菌体抽出液中の促進物質とは恐らく異質のものと考えるのが妥当であろう。仲野株の培養濾液は培養日数の若いものも古いものも *C. alb* を著明に増殖せしめるが、この作用には上述した特異的な factor と非特異的な factor とが Superpose しているものと考えて差支えなからう。

3) 鳥型菌、非抗菌の長期培養液中において *C. alb*

の増殖が不良であることについて。この原因としては大体次の3つの可能性が考えられる。第1に、培養当初濾液中に存在して居た抗酸菌の代謝産物が菌の増殖に伴って次第に減少し、後期の濾液中には促進物質が無いか又は極めて少いため *C. alb* の発育が悪くなるのではないかと云うこと、第2に抗酸菌の発育によつて培地中のエネルギー源が高度に消費され、これが *C. alb* の発育を不利ならしめるのではないかと云うこと、第3に後期の濾液中には *C. alb* の発育を阻害する因子が存在するのではないかと云う事、などを原因として数え得る。

先づ第1の点について考察して見よう。仲野株の如き毒力結核菌の代謝産物が、*C. alb* の発育促進物質を含んでいることは既に第I報において観察されているから、鳥型菌や *M. phlei* の濾液にも程度の差はあれ同様な物質が含まれていると云う可能性は十分考えられる。事実又これ等の菌の初期培養濾液は確かに *C. alb* の発育を促進する。然し *C. alb* に対する発育促進物質は、透析性から見て恐らく分子量の小さい物質であり且耐熱性でもあることから比較的安定した物質と想像して良からう。従つて培地中に一旦出されたこの物質は仮令量的変化はあるにせよ容易に破壊されたり消失したりするものとは考えにくい。また鳥型菌乃至非抗酸菌が物質代謝の結果として一旦培地中に放出したものを再び自己のエネルギー源として利用し消費して行くこと云う事も、全く否定することは出来ないにせよ可なり考えにくい事柄である。

かく見れば、後期濾液における *Candida* 発育促進作用の欠如は、むしろ抗酸菌の発育に伴うエネルギー源の欠乏に原因ありとする第2にあげた可能性の方がより大きな役割を演じているように考えられて来る。然しこの点を追求をするために行つた実験 VI の結果は、上述した2つの可能性の何れをも肯定しているには思われぬ。実験 VI において著者は Sauton 培地に培養した3日目、5日目、12日目及び36日目の鳥型菌培養濾液にそれぞれ *C. alb* を植えて見た。結果は既に述べた如く、古い培養濾液に植えた場合程 *Candida* の発育はよくない。然るにこれらの濾液を新しい Sauton 培地で10倍に稀釈して同じ実験を繰り返すと、今度はどの日数の濾液にも同程度に良く発育するようになる(第6表)。この事実は一見古い培養濾液におけるエネルギー源の不足を証明するものように思われる。即ち古い培養濾液には *C. alb* の必要とするエネルギー源が不足しており、従つてこの中における *C. alb* の発育は良くないが、これに9倍量の Sauton 培地を加えられた場合は新しいエネルギー源が補給されたことになり、それが *Candida* の発育を促す結果となる、と考えれば何も問題はなさそうである。然しながら一歩進んで考え

て見ると、既に度々述べた如く *Candida* 自身は Sauton 培地内において殆んど発育し得ない。然りとするならば、鳥型菌の培養濾液に新しく Sauton 培地を加えられた場合においても、常識的に云えば *C. alb* の利用し得るのは全量の10%を占める培養濾液成分だけに過ぎない事になる。而してこの場合の発育に差がないとすればこれに含まれる培養液成分にも、さしたる差はない筈である。然らば何故 Sauton 培地を加える以前の濾液には差が見られるのであろうか? これを説明することは甚だ難しい。ここに我々には知られない別のからくりがあるのではあるまいか? *Candida* 発育促進物質の多寡に関する第1の考え方についても同じ事が云える。上と同じ理由により、Sauton 培地補給時といえども *Candida* の発育は10%に含まれる培養濾液中の促進物質に依存するに過ぎず、第6表の成績は必ずしも後期の濾液中に促進物質が少いことを示すものとは云えないであろう。

上記の可能性に何れも難点があるとすれば第3の可能性を考えなければならない。後期の培養濾液中には *Candida* の発育を阻害する因子が現れて来ると云う事は十分に考えられる可能性である。然し実際にかかる有害物質を取り出して見ない限りこの可能性は肯定も否定も出来ない。而してこのような物質を(もし有りとするならば)化学的に分離すると云う事はそれだけでも非常に大きな問題である。我々の研究は未だそこまで進む段階に達していない。ただ若しこのような有害物質が存在すると仮定した場合、想像し得る1つのことは、後期培養濾液に Sauton 培地が9倍量加えられるとそれだけ有害物質の濃度が稀釈される事になり、従つて原液よりも *Candida* に良好な発育をもたらす結果になるのではあるまいか、と云う推論だけである。

以上要するに抗酸性菌と *C. alb* の共棲に関しては、単に色々な実験事実を観察したのみで、その機序について知り得たことは甚だ少い。考察すべき点についても混乱を避けるため常識的に考え得る主要点だけを論ずるに止め、その他の細かい点については故意に触れなかつた。抗酸性菌と *Candida* と云う種属の異つた2つの菌の共棲に際しては、これまで述べて来た単純な factor 以外にも追求しなければならぬ複雑な factor が数多く残されている。例えば我々は酵素学的な観点から何等論じ得なかつたし、*C. alb* に対する発育促進物質の化学的同定なども全く今後に残された問題である。著者の明らかにし得なかつた諸点に関しては将来の研究に俟たねばならぬものが甚だ多く、多くの学者によつて実験が重ねられることを願つて止まない次第である。

結 語

1) modified Kirchner 培地において結核菌に *C. alb* を共棲せしめると、結核菌の発育は培養後期になつてある程度抑えられ、染色像においても退行型が現われて来る。又この時期には対照に比し生菌単位も著明に減少して来る。然し同時培養後 2 週間位までにおける結核菌の発育は *Candida* の共棲による影響を少しも受けない。

2) 結核菌の発育が衰えて来る 2 週間以後の同時培養濾液をとつてこれに結核菌を植えて見ると、菌膜はうすくその乾燥菌量も対照の半分に満たない。従つてこの時期の同時培養濾液は結核菌の発育に不適と思われるが、その原因が *Candida* の発育に伴うエネルギー源の欠乏にあるか否かは未だ不明である。何となれば *C. alb* 自身は Kirchner 培地成分を殆んど利用し得ないし、若しまた利用し得るものとするならば *C. alb* の分裂速度から見てもつと早期に結核菌の発育は影響を受ける筈だからである。

3) 抗酸性菌の中性水又はアルカリ抽出液は Strain の如何を問わず *C. alb* の発育を促進する。然し菌体成分中の *Candida* の発育促進物質と、人型菌又は BCG の

培養濾液中に含まれる発育促進物質とは恐らく異質のものと考えられる。

4) 人型菌、BCG の培養濾液は、菌培養日数の長短に拘らず *C. alb* の発育を促進せしめる。その作用はむしろ培養日数の古いものの方が強い。然るに鳥型菌、非抗菌のそれは初期の培養濾液のみがこの作用を有し、後期培養濾液の示す *C. alb* 発育促進用は極めて低い。

尚本論文の要旨は第 32 回日本結核病学会総会のシンポジウム「結核菌と *Candida*」において述べた。

稿を終るに当り、恩師大原教授の御指導、御校閲に深謝する。

文 献

- 1) 横井敏夫：結核の研究，第 6 集．59—68，昭 32 年
- 2) 横井敏夫：未発表
- 3) A. Baisden and D. Yegian：J. Bact. 45. 163—166. 1943.