



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Phytochromogenic MycobacteriaのCross-bandに関する研究
Author(s)	有馬, 純; ARIMA, Jun; 高橋, 昭一郎 他
Description	
Citation	結核の研究, 33, 26-36
Issue Date	1973
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/26825
Type	departmental bulletin paper
File Information	33_P26-36.pdf



Phytochromogenic Mycobacteria の Cross-band に関する研究

有馬 純 高橋昭一郎 五十嵐 仁

(北海道大学結核研究所予防部)

(昭和47年9月30日受付)

Nassau ら¹⁾が肺疾患々々から分離したいわゆる yellow bacillus に染色上特徴のある縞模様が見られることを初めて見出し、これを Cross-band と命名して以来、多数の研究者がこの所見を観察し報告している。Boisvert²⁾, Le lirzin ら³⁾によるとこのものは *M. kansasii* の Dubos 培地 1~2 日培養に特徴的に出現すると言ひ、Meißner⁴⁾, Schröder ら⁵⁾によれば Runyon の group I 即ち *M. kansasii*, *M. marinum* に特徴的であると言ふ。われわれは本実験で、第一に Cross-band (以下 C-band と略す) の出現が菌の培養条件によりどう影響されるか、第二に光学顕微鏡 (以下光顕と略す) で観察される C-band が果して電子顕微鏡 (以下電顕と略す) で認知されるかどうか、について検討した。なお、培養条件に関する研究は、著者の一人有馬が西独ボルステルの研究所 (Forschungsinstitut für experimentelle Biologie und Medizin) で行なったもので、電顕の研究は帰国後、本研究所で行なったものである。

実験 I. C-band 出現に関する培養条件の吟味

実験方法と実験材料

用いた菌株は、*M. kansasii* var. *luciflavum* として No. 459, 4888, 及び 13006 の 3 株; *M. marinum* として No. 1521, 8672 及び 8671 の 3 株; C-band 陰性菌対照として *M. vaccae* No. 9812 株と *M. gordonae* (syn. *M. aquae*) No. 510 株の計 8 株。なお後述の理由から *M. gordonae* は別に No. 4584, 5561, 5563, 5959, 及び 5523 の 5 株を追加して使用した。

菌の培養は、固型培地として Löwenstein-Jensen (以下 L.-J.), Middlebrook の 7H10 の両培地を、液状培地として Dubos, Kirchner, 及び Middlebrook の 7H9 の 3 種類を用いた。L.-J. 培地に 3~4 週培養の菌塊を取って白金耳でよく試験管の壁で磨砕しつつ Dubos 培地に移し、3~4 日 37° (但し *M. marinum* のみ 30°) に培養のものを出発材料とし、前記各種培地に移植し、その後 4, 8, 12, 24 時間目に sample を取り、Ziehl-Neelsen 染色 (以下 Z.-N. 染色) を行ない、光顕で観察した。固型培地から sample を取る際には、予め滅菌蒸留水を適量培

養に加え、菌の播かれた箇處を白金耳で軽く擦ってから、管底の液を遠心管に移し、遠沈、その沈渣を対物ガラスに塗抹して染色した。

実験結果

上記 5 種の培地における C-band 出現の時間的経過を表 1 に示した。*M. kansasii* は光合成の明かな var.

表 1 種々の培養条件下における Cross-band の出現

菌種・菌株	時間 (時)	培 養 基					
		Löws- Jen.	7H10	7H9	Kirch- ner	Dubos	
<i>M. kansasii</i>	4591	4	—	—	—	—	+
		8	+	—	+	+	+
		12	+	+	+	+	+
		24	+	+	+	+	+
	4888	4	—	—	—	—	—
		8	—	—	—	—	—
		12	—	—	—	—	—
		24	—	—	—	—	—
	13006	4	—	—	—	+	+
8		—	+	—	+	+	
12		+	+	—	+	+	
24		+	+	—	+	+	
<i>M. marinum</i>	1521	4	—	—	—	—	—
		8	—	—	—	—	—
		12	—	—	—	—	—
		24	—	—	—	—	—
	8672	4	—	—	—	—	—
		8	—	—	—	—	—
		12	—	—	—	—	—
		24	—	—	—	—	—
	8671	4	—	—	—	—	—
8		—	—	—	+	—	
12		+	—	—	+	—	
24		—	—	—	+	—	
<i>M. vaccae</i> 9812	4	—	—	—	—	—	
	8	—	—	—	—	—	
	12 24	—	—	—	—	—	
<i>M. gordonae</i> 510	4	—	—	—	+	+	
	8	+	+	—	+	+	
	12	+	+	—	+	+	
	28	+	+	—	+	+	

luciflavum を用いたが、3株中1株 (No. 4888) は陰性の成績であった。M. marinum の成績は陰性に近く、唯1株 (No. 8671) のみ Kirchner 培養 8~24 時間で C-band を認めたと過ぎない。C-band 陰性菌の対照として用いた M. vaccae は陰性であったが M. gordonae は予期に反し著明な陽性成績を示した (表 1)。

なお、M. kansasii の C-band 陽性株について、C-band の出現状況を時間的に、培地別に見ると、固型培地では L.-J., 7H10 何れの場合も菌移植後 8~12 時間に現われ、これに対し液状培地では 7H9, Kirchner, Dubos 3 種の別なく C-band の現われ方が早く、4 時間目で明かに見られ、その菌 population に出現する比率も固型培地に比して高かった。

M. gordonae は Runyon の Group II に属し、C-band が陽性に出たことは予期に反したので、新たに 5 株について同様の実験を繰返した。成績を表 2 に示したが、固型培地 (7H10) でも、液状培地 (Kirchner と Dubos) でも前回同様に著明な C-band 形成が認められた。

表 2 M. gordonae における Cross-band の出現

菌 株	時 間 (時)	培 養 基		
		7H10	Kirchner	Dubos
4583	8	+	±	-
	12	+	+	+
	24	+	+	+
5561	8	+	-	+
	12	+	+	+
	24	+	+	+
5563	8	+	+	+
	12	+	+	+
	24	+	+	+
5959	8	+	+	+
	12	+	+	+
	24	+	-	±
5523	8	+	+	+
	12	+	+	+
	24	-	+	+

小 括

photochromogen に属する M. kansasii と M. marinum でいわゆる C-band を in vitro で認めることが出来た。固型培地 (L.-J., 7H10) では菌移植後 8 時間後に、

液状培地 (7H9, Kirchner, Dubos) では 4 時間後に C-band の出現が認められ、このものは時間の経過と共に増加した。scotochromogen に属する M. gordonae にも同様の所見がみられた。

実験 II. 光顕的所見と電顕的所見の比較

実験方法と実験材料

用いた菌株は以下の通りである。

Group I: M. kansasii var. luciflavum として P1, P16, P18, P21, P22, 及び P26 の 6 株; M. kansasii var. aurantiacum としてボルステル研究所由来の No. 8578, 8582, 8583, 8585, 8587, 9378, 及び 9382 の 7 株; M. kansasii var. album として同じくボルステル研究所由来の No. 8043, 8044, 8559, 8561, 及び 8563 の 5 株; M. marinum として同じくボルステル研究所由来の No. 438, 439, 3370, 8671, 8672, 8673, 及び 9419 の 7 株; M. asiaticum* として広島大斎藤肇博士より分与された No. 27, 32, 61, 及び 64 a の 4 株。

Group II: M. gordonae として P38, ATCC14470, ATCC19277, ATCC23283, 及び HB2804 (パストウル研究所より分与) の 5 株; M. scrofulaceum として 19073 と 19981 の 2 株; M. acapulcensis として ATCC14473 株。

Group III: M. avium として名古屋, E38686, Kirchnerberg, Flamingo, 及びパストウル研究所由来の chevallier の 5 株; M. intracellulare として P2, P7, P25, P39, 及び P42 の 5 株, M. xenopi として 19276 及びパストウル研究所より分与株の 2 株; M. gastri として ATCC15754, 15784, W-465, 及び W-479 の 4 株; M. tuberculosis として H₃₇Rv, H₃₇Ra, 及び Schacht の 3 株; M. bovis として BCG, Ravenel, 及び牛 1 の 3 株, 総計 59 株。

光顕用ならびに電顕用資料の調製は次のように行なった。即ち実験 I. に述べたように、小川培地によく生えた菌を一度 Dubos 培地を通し、4~5 日培養したものを新鮮な Dubos 培養に移し、その後 8, 24 時間, 3, 7 日目に培養物を 3000 rpm 15 分遠沈し、沈渣を 3~4 回 0.05% tween 80 液で洗滌した。遠沈して得られた最初の沈渣を Z.-N. 染色検査に供し、最終的に得られた沈渣を上清を電顕資料に供した。電顕写真は日本電子光学株式会社製 JEM 100 型で、加速電圧 80 kV で撮影した。

* ハンガリーの Weiszfeiler⁶⁾ より Runyon の group I として報告された M. simiae は齋藤の研究によって homogenous な菌の集りであることが証明された。供試の 4 株は、これらの中真性な photochromogen で最近 M. asiaticum と命名されたと言う⁷⁾。

実験結果

Runyon の Group I の中、まず *M. kansasii* について表 3 から見ると、光合成能をもつ var. *luciflavum*, scotochromogenic な var. *aurantiacum*, また nonchromogenic な var. *album* の 3 者に共通して C-band は Dubos 培養 8 時間以後のものに光顕像として現われること、そしてこの現象は、平行的に行なわれた電顕的検査でも頗る特徴ある映像として現われることが判る (図 1~6), 即ち電子線を強く透過し、数珠状に連る球体が認められた。光顕像と電顕像は個々の菌株について時間的経過から見ると、必ずしも完全には一致していない。しかし概して言えることは、染色像に現われる C-band と電顕像に認められる電子透過体 (以下 ETB, electron transparent body の略) は培養 8 時間から培養 24 時間と出現度が増強し、3 日以後減弱する傾向がみられることである (図 2~4)。

染色像に現われる C-band は、従来抗酸菌に Z-N 染色で見られる色素に濃染の顆粒とは全く様相を異にし、細胞を恰も横に分断するように現われ C-band と C-band の間は殆んど染らずに残されている。一方、電顕像で見られる ETB は、図 3 のように、培養早期の未だ分裂増

殖開始前の bacterial mass の主として周辺部のものによく出現するように思われる。それ自体の形は球状或いは楕円形で、個々の ETB は場合により他と独立して、或いはまた数珠の連るように互に連絡している。その大きさは $0.3 \sim 0.8 \mu$ で、それ自体は無構造のように思われる。C-band と ETB との関係については後で考察を加えたい。

M. marinum について成績を表 4, 図 7, 8 に示したが、7 株中 4 株に培養 8~24 時間で C-band を認め、実験 I の表 1 に示した 3 株の成績に比して C-band 出現の陽性率が高いことに気づく。光顕像と電顕像の関係は菌株によって 438 株のように極めてよく一致するものもあり、3370 株や 8672 株のように一致せず、C-band が陰性又は疑陽性で ETB のみ陽性にできる傾向が見られた。このことは恐らく ETB 自体の性状が *M. marinum* と *M. kansasii* で若干異なることによるものか、或いは図 8 及び図 9 に見られるように細胞の縦軸に沿って ETB が一線をなさず複雑に配列するために染色で鮮かな C-band が成立し難いことによるのではあるまいか。*M. asiaticum* では 4 株中明かに C-band が認められたのは No. 32 株と No. 61 株の 2 株であった (表 4)。なお No. 32 株

表 3 光顕的所見と電顕的所見 (1)

(*M. kansasii*, 培地: Dubos)

variant	菌株	培 養 時 間									
		0 ^h		8 ^h		24 ^h		2 ^d		7 ^d	
		Lm*	Em**	Lm	Em	Lm	Em	Lm	Em	Lm	Em
var. <i>luciflavum</i>	P 1		—	—	+	+	+	+	+	±	—
	P 16	±	±	+	+	+	+	+		±	—
	P 18	—		+		+		—		—	
	P 21	—		+		±		—		—	
	P 22	±		+		+		+		—	
	P 26	±	±	+	+	+	+	+		—	—
var. <i>aurantiacum</i>	8578	±	±	+	+	+	+	—	+	—	—
	8582	—		+	+	±	+	—	+	—	—
	8583	—		+	+	+	+	±	+	±	±
	8585	+		+	+	+	+	±	+	—	+
	8787	—				+	+	—	+	—	
	9378	—		+	+	±	+	±	+	±	±
9382	—		+	+	+	+	±	+	+	±	
var. <i>album</i>	8043	—	±	+	+	±	+	—	±	—	—
	8044	±	±	+	+	+	+	—	±	—	—
	8559	—	—	+	+	+	±	—	—	—	—
	8561	±	±	+	+	±	+	+	±	—	
	8563	±	—	+	+	+	+	+		±	

* Lm: 光顕的所見 ** Em: 電顕的所見

表4 光顕的所見と電顕的所見 (2)
(*M. marinum* と *M. asiaticum*, 培地: Dubos)

菌種	菌株	培養時間									
		0 ^h		8 ^h		24 ^h		3 ^d		7 ^d	
		Lm	Em	Lm	Em	Lm	Em	Lm	Em	Lm	Em
<i>M. marinum</i>	438	±	±	+	+	+	+	-	±	-	±
	439	±	±	+	+	±	±	-	-	-	-
	3370	-	-	±	+	+	+	-	+	-	-
	8671	-	±	-	-	±	±	±	±	±	±
	8672	±		-	+	-	+	-	+	-	-
	8673	-	-	±	+	+	+	-	±	-	-
	9419	-	±	-	-	-	±	-	-	-	-
<i>M. asiaticum</i>	27	±	-	±	-	±	±	±	-	-	-
	32	±	-	±	+	+	+	+	+	-	-
	61	±	-	±	±	+	-	+	-	-	-
	64a	-	-	-	-	-	±	±	±	-	-

表5 光顕的所見と電顕的所見 (3)
(*M. gordonae*, *M. scrofulaceum*, *M. acapulcensis*, 培地: Dubos)

菌種	菌株	培養時間									
		0 ^h		8 ^h		24 ^h		3 ^d		7 ^d	
		Lm	Em	Lm	Em	Lm	Em	Lm	Em	Lm	Em
<i>M. gordonae</i>	P38	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-
	ATCC14470	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
	ATCC19277	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
	ATCC23283	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2804	-	-	-	±	±	-	-	±	-	-
<i>M. Scrofulaceum</i>	19073	-	-			-	-	-	-	-	-
	ATCC19981	-	-			-	-	-	-	-	-
<i>M. acapulcensis</i>					-	-	-		+	-	

では C-band と平行して ETB が認められた (図10)。

Runyon の Group II に属する *M. gordonae*, *M. scrofulaceum*, 及び *M. acapulcensis* の成績を一括して表5に示した。*M. gordonae* ではボルステル研究所における極めて高率な C-band 出現の成績 (表2) を再び得ることは出来なかったが, 5株中2株 (P38 と ATCC 19277) には C-band 並びに ETB をほぼ一致して認めることが出来た (図11)。*M. scrofulaceum* では, 試みた2株とも C-band, ETB は陰性であり, 又 *M. acapulcensis* の1株もほぼ陰性の成績であった。*M. scrofulaceum* の Dubos 培養24時間の電顕写真を代表例として図12に示した。

Runyon の Group III に属する *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. gastri*, 及び *M. xenopi* について成績を

一括して表6に示した。この group では *M. gastri* を除き, 他の *M. avium* 5株, *M. intracellulare* 5株, *M. xenopi* 2株の殆んど総てのもので C-band, ETB ともに完全に陰性の成績であった (表6, 図13, 14)。これに対して *M. gastri* では試みた4株は総て C-band 陽性であった。しかし ETB の現われ方は ATCC1574株のように明かに陽性のものもあったが (図15), むしろ全体としてその程度は弱く, 且つ population での陽性率も低いように思われた。

なお, 対照として実験に供した *M. tuberculosis* と *M. bovis* の成績を表7に示したが, 両種とも総ての株で C-band も ETB も全く認められなかった。なお図16と17に, 代表的菌株として H₃₇Ra と BCG の電顕写真を示した。

表6 光顕的所見と電顕的所見 (4)
(*M. avium*, *M. intracellulare*, *M. gastri*, *M. xenopi*, 培地: Dubos)

菌種	菌株	培養時間									
		0 ^h		8 ^h		24 ^h		3 ^d		7 ^d	
		Lm	Em	Lm	Em	Lm	Em	Lm	Em	Lm	Em
<i>M. avium</i>	E38686	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-
	名古屋	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Flamingo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kirchberg	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Chevallier	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>M. intracellulare</i>	P 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	P 7	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-
	P25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	P39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	P42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>M. gastri</i>	ATCC15754	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	ATCC15784	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
	W-465	-	-	±	+	+	±	+	±	-	-
	W-479	-	-	±	-	+	-	±	-	-	-
<i>M. xenopi</i>	19276	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Pasteur 分与株	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

表7 光顕的所見と電顕的所見 (5)
(*M. tuberculosis*, *M. bovis*, 培地: Dubos)

菌種	菌株	培養時間									
		0 ^h		8 ^h		24 ^h		3 ^d		7 ^d	
		Lm	Em	Lm	Em	Lm	Em	Lm	Em	Lm	Em
<i>M. tuberculosis</i>	H ₃₇ Rv	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	H ₃₇ Ra	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Schacht	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>M. bovis</i>	BCG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ravenel	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	牛 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

小 括

Dubos に菌移植後、時間を退って C-band 出現の状態を光顕的にしらべ、これと平行して同一の sample につき電顕的検査を行なった。*M. kansasii* の 3 variant, *M. marinum*, *M. asiaticum* (以上 Runyon の Group I), *M. gordonae* (Runyon の Group II), 及び *M. gastri* (Runyon の Group III) で C-band が認められ、これとほぼ一致して電顕像に電子透過性の極めて強い球状或いは楕円形の小体が見られた。

全体的考察

Nassau らによって *M. kansasii* で初めて観察、命名された C-band という染色的構造は、従来抗酸菌の染色像に認められる顆粒とは全く様相を異にし、染色された部分が細胞の縦軸に直角に数個ないし 8 個程度に並び、それらの構造物に挿まれた細胞の部分は殆んど染色されない極めて特徴的なものであり、このため細胞は全体として横縞模様を呈する。そしてこの構造は Dubos 培地に培養して 1~2 日で現われるというのが定説のようである。しかし Schröder らは固型培地、例えば 7H10

agar や L-J でもこの C-band が現われること、但し前者では培養 10~14 時間で、後者ではこれより遅れて観察されると述べている⁵⁾。しかし Schröder の研究室で著者の一人有馬が追試した限りでは両培地の間にさして違いはなく、陽性株では何れの培地でも培養 8 時間で C-band が認められた。これに比べて Dubos, Kirchner, 或いは 7H9 など液状培地では、固型培地の場合よりも早く、培養 4 時間で既に C-band が見られた。とは言えこのように固型培地、液状培地の何れにおいても、C-band 出現の時期は slow grower である *M. kansasii* にとっては、菌細胞の分裂増殖の前即ち lag phase に当たるものと考えてよいであろう。

次に C-band の出現の仕方も、固型培地と液状培地とかなり違うようである。固型培地では bacterial mass の主として周辺の菌に C-band は限局して見られ、またそれら C-band 陽性菌はおおむね大きく、成長の途上にあることを思わせるのであるが、液状培地では mass 全体に一気に C-band が発生しているといった感じで、従って population における出現率は固型培地に比して高い。両種培地にみられるこの違いは、移植された菌と培地の接触の仕方の違いによるものと考えてよいであろう。即ち固型培地の場合、移植された bacterial mass の一部は培地に接触するが、その表面の部分は接触し得ないからであろう。C-band は培地に直接接触している細胞にまず生ずるものと思われる。

M. kansasii では 3 種の variant の間に C-band 出現の点で差異が認められなかった(表 3)。この点 Meißner⁴⁾ や Schröder⁵⁾ らの報告と一致する。要するに *M. kansasii* では光合成の性状の有無とは関係なく C-band が生ずるものと考えられる。

Group I に属する *M. marinum* については、既に Meißner⁴⁾ と Schröder ら⁵⁾ が C-band 陽性と記載しているが詳細な報告はみられない。著者らの実験では、*M. kansasii* に比べて C-band 陽性を示す株の比率はやや低い成績であった(表 1, 表 4)。次に Weiszfeiler⁶⁾, 斎藤⁷⁾ により新たに group I と報告されている *M. asiaticum* では 4 株中 2 株に C-band を認め得た(表 4)。なお Group I 以外に陽性をみたのは Group II の *M. gordonae* と Group III の *M. gastris* であった。*M. gordonae* に関してはボルステル研究所で得られた成績(表 1, 表 2)と本研究のそれ(表 4)の間にかかなりの喰い違いがあり、後者における成績では C-band の陽性率が明らかに低い。これは用いた菌株が両研究所で異なっていることも明らかにその原因であろう。それはともかく、*M. gordonae* に C-band が見られることは確実なこと

と思われるが、この点 Boisvert²⁾ も既に触れている。*M. gastris* に C-band が出ることは Meißner⁴⁾ と Schröder ら⁵⁾ が既に報じており、ことに Meißner はその他の生化学的性状、薬剤感受性の点からこの species を Group I に属するものと考えているほどである。なお、本実験では *M. gordonae* と *M. gastris* の 2 種を除くと、他の group ないし type の菌 (*M. scrofulaceum*, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. xenopi*, *M. tuberculosis*, 及び *M. bovis*) では、試みた総ての菌株で C-band 陰性の成績であった。以上を纏めてみると C-band は一応 Runyon の Group I に高い率で出現する染色上の構造と考えてよいのではなからうか。

光顕的に認められる C-band が果して電顕像として捉えられるかどうか。この点を明かにするためにまず同一の菌液から別々に光顕用と電顕用の試料を作り、培養経過を追って現象を動的にしらべた。その結果、C-band が著明に見られる *M. kansasii* と *M. marinum* で明らかにされたことは、C-band と平行的に電顕像で ETB が現われるという事実であった。そして C-band と ETB は凡そ一致して消長することから C-band 形成に ETB が関係していることはほぼ確実と思われる。そこでわれわれは全く同一の試料について Z-N 染色後、光顕写真と電顕写真を撮影して対比して観察する実験を試みた。即ち Ebina ら⁸⁾ の方法に従って formval を張った電顕用メッシュ(膜強化のため carbon 蒸着を行なった)の上に sample を取り、Z-N 染色を行ない、電顕写真、ついで光顕写真を撮影した。その成績を図 18 と 19 に示した。両者を比較して一層確実になったことは、Z-N 染色で色素は ETB と ETB の間に挿まれた細胞質の部分に吸着すること、一方 ETB 自身は色素に染らずに残され、この結果光顕的には図 19 のような縞模様を呈するということである。

さて次の問題は電顕像で初めて明かにされた ETB の実体は何かということであろう。図 20 は *M. kansasii* var. *luciflavum* P16 株の Dubos 培養 24 時間の菌体のほぼ半分の電顕像を強拡大したものであるが、ETB の大きさ、形、また互の ETB と ETB 間の連絡等が一見して判る。図で菌細胞の左端にある ETB が他のものと異なり、細胞の縦軸に沿って二分されている。なお、sample によっては ETB が三分されている像も見られる。また ETB と ETB 間に図のように連絡のみられる場合と個々が独立している場合もある。何れにせよ ETB は極めて繊細な一重の膜に包まれた一種の organelle で、それ自体一定の内圧をもつ gel 物質を内蔵するものと考えてよいであろう。次に誰しも疑問に思うであろうこと

は、ETB は本質的に従来 Lembke と Ruska⁹⁾ 或いは Knaysi¹⁰⁾ の言う vacuole と同一のものではないかという点である。Knaysi によれば vacuole は一定の内圧をもち、tonoplast で包まれている organelle として抗酸菌に広く行きわたった system で、若い細胞にも見られるが、細胞の増殖期に数が増加すると言う。われわれの実験で、*M. kansasii* に代表されて観察された ETB は、幾多の点で Knaysi の言う vacuole (詳しくは cell-sap vacuole) に近いが、相異なる重大な点は、第一に ETB は cell-sap vacuole と異なり、菌の分裂前の lag phase にほぼ限られてみられることである。この点を最もよく示すのは *M. kansasii* P16 株に関する電顕像 (図 1~4) であろう。ETB は Dubos 培養 8 時間から現われ 24 時間で一層著明になるが、分裂増殖の活発な 1 週目では消失している。しかも ETB に替って、このような分裂増殖し新たに出現し始めた若い桿菌には、従来 Knaysi や Lembke らが主張する vacuole が斑紋状の様相を呈して多数みられている。ETB と vacuole の第二の相違点はその染色性にあると思う。即ち vacuole は Z-N 染色で染めるのに対し、ETB は不染のまま空白部として残る。何故か？ われわれは ETB の内圧が著るしく強いと、色素を取るべき細胞質が ETB の周囲に排除されるためであろうと考えたい。またこのような状態の ETB は、その内蔵する物質が Gale と McLain¹¹⁾ の言うように lipoid であるにせよ、他の物質であるにせよ、極めてよく電子線を透過し、このため vacuole に比し一層空白な球状体としてわれわれの眼に映ずるのではなからうか。vacuole の実体ないし機能については、古くから諸説^{9)~13)} があるが、未だ推定の域を出ていないと言ってもよいであろう。われわれは、今回偶々見出すことの出来た ETB について今後さらに研究を続け、その成果があるいは従来の vacuole の実体ないし機能の解明に鍵を与えるのではなからうかと考えている。

結 語

- 1) C-band は Runyon の Group I に属する *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. asiaticum* に明らかにみられた。
- 2) しかし *M. gordonae*, *M. gastri* など Group I

以外の菌種にもみられたことから、C-band の出現は Group I に必ずしも限られないと思われる。

3) *M. kansasii* では var. *aurantiacum* にも var. *album* にも C-band が認められ、従ってこの現象は光合成とは関係はないと思われる。

4) 液状培地では固型培地より早期に C-band が出現する。何れの培地でも、この C-band 形成は細胞の logarithmic phase の前に、即ち lag phase に起るものと思われる。

5) C-band のみられる菌では、電顕像で電子透過体 (ETB) の配列が認められた。C-band はこれら ETB と ETB の間に挿まれた細胞質が色素で染るために生ずることが確認された。

本論文の要旨は昭和 46 年 11 月の第 22 回、日本結核病学会北海道地方学会総会及び昭和 47 年 4 月の第 47 回、日本結核病学会総会において発表した。

文 献

- 1) Nassau, E. et al.: *Tubercle*, **38**, 387 (1957).
- 2) Boisvert, H.: *Rassegna di Patologica dell'Apparato Respiratorio* (1967).
- 3) Le lirzin, M. et al.: *Cahiers du Collège de Médecine*, **10**, 119 (1969).
- 4) Meißner, G.: 未刊.
- 5) Schröder, K. H. et al.: *Zbl. Bakter. I orig.* **207**, 498 (1968).
- 6) Weiszfeiler, G. et al.: *Tuberk. éstud.*, **24**, 289 (1971).
- 7) 齋藤 肇: *結核*, **46**, 459 (1971).
- 8) Ebina, T. et al.: *Nature*, **180**, 42 (1967).
- 9) Lembke, A. et al.: *Klin. Wschr.*, **19**, 217 (1940).
- 10) Knaysi, G.: *Bacterial Cytology*, Ithaca, New York, 1951 p. 184.
- 11) Gale, R. G. et al.: *J. Bacter.*, **86**, 749 (1963).
- 12) Kölbel, H.: *Z. Hyg.*, **144**, 267 (1957).
- 13) Bassermann, F. J.: *Infektionskrankheiten und ihre Erreger*, B 4, Mykobakterien und mykobakterielle Krankheiten, Gustav Fischer, Jena, 1967, p. 26.

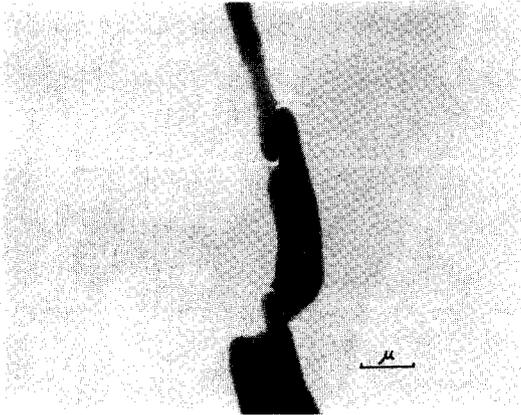


図 1

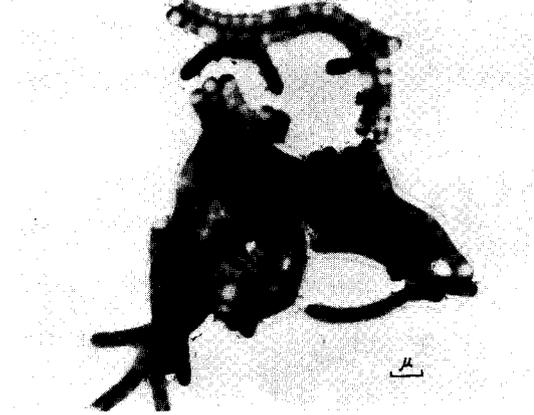


図 3

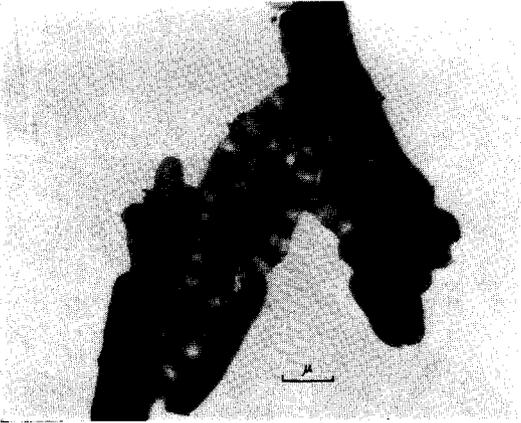


図 2

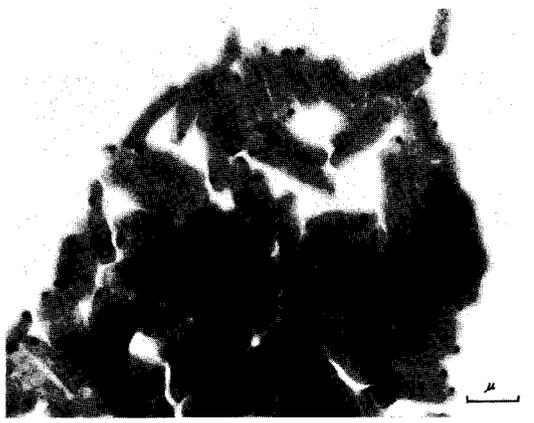


図 4

図 1~4 *M. Ransasii* var. *lucifulavum*, P16 株, Dubos 培養それぞれ 0, 8, 24 時間及び 7 日の菌, 図 1, 2, 4 は $\times 14,000$, 図 3 は $\times 8,000$

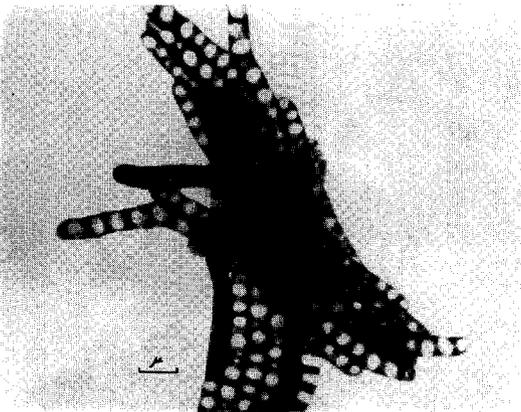


図 5 *M. Ransasii* var. *aurantiacum* 8583 株, Dubos 培養 24 時間の菌, $\times 10,000$

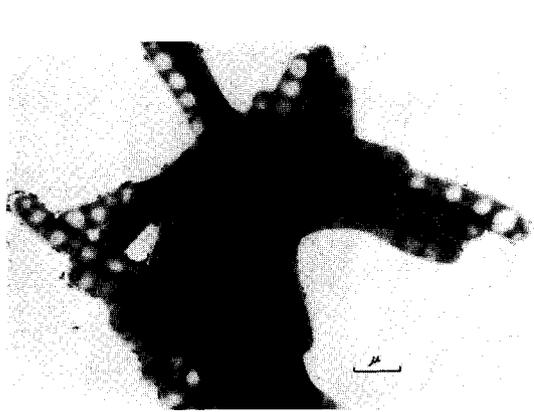


図 6 *M. Ransasii* var. *album* 8561 株, Dubos 培養 24 時間の菌, $\times 14,000$

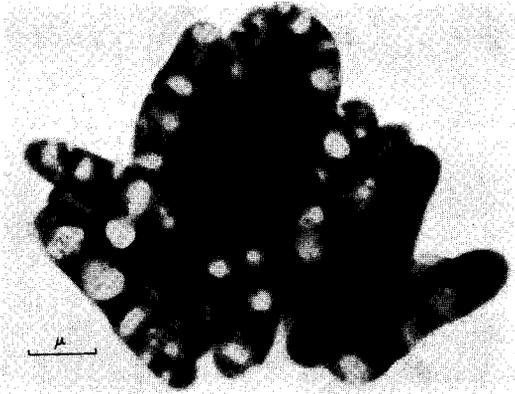


図 7 *M. marinum* 438 株, Dubos 培養
24 時間の菌, $\times 20,000$

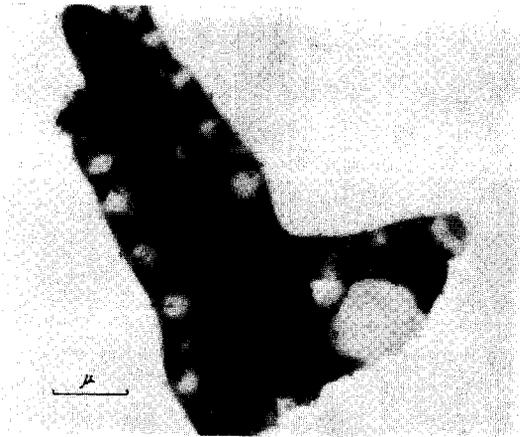


図 10 *M. asiaticum* 32 株, Dubos 培養
24 時間の菌, $\times 20,000$

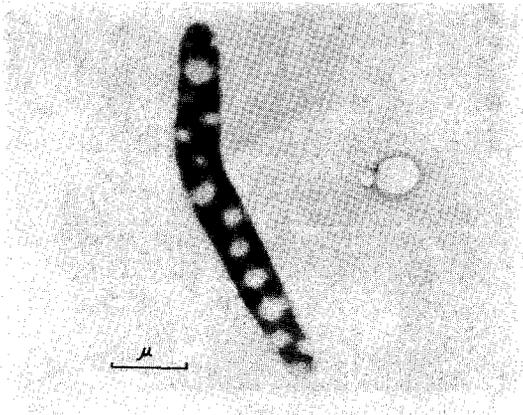


図 8 *M. marinum* 8672 株, Dubos 培養,
24 時間の菌, $\times 20,000$

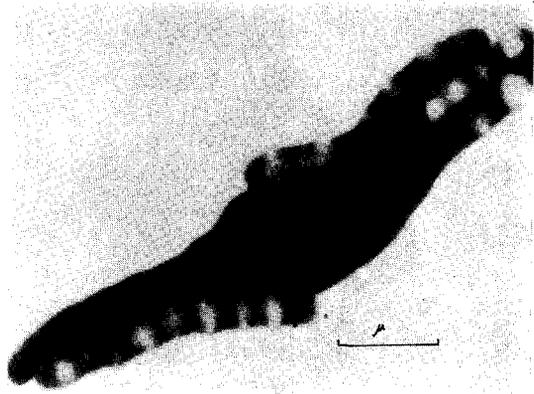


図 11 *M. gordonae* P38 株, Dubos 培養
24 時間の菌, $\times 30,000$

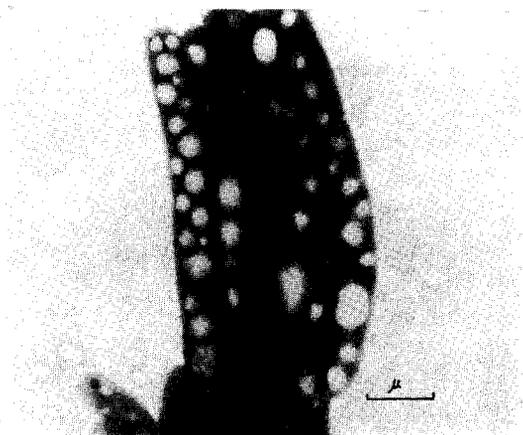


図 9 *M. marinum* 8672 株, Dubos 培養,
3 日の菌 $\times 18,000$

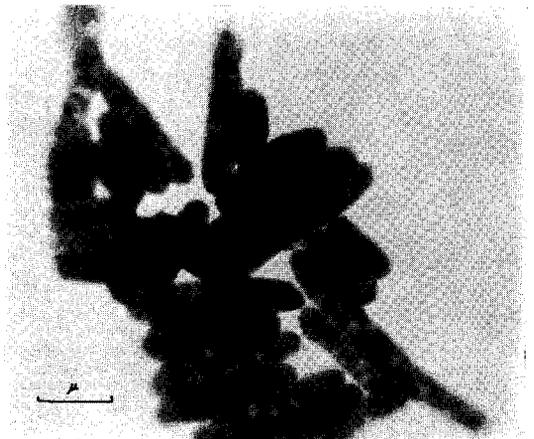


図 12 *M. scrofulaceum* 19073 株, Dubos 培養
24 時間の菌, $\times 20,000$

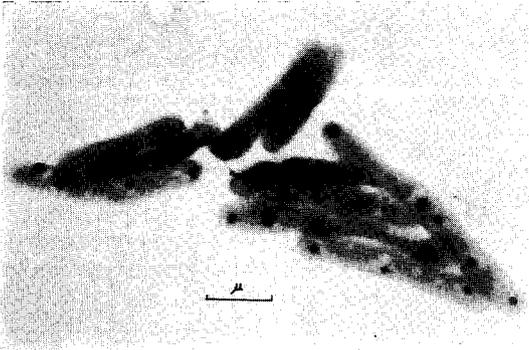


図 13 *M. avium* Kinchberg 株, Dubos 培養
24 時間の菌, $\times 20,000$

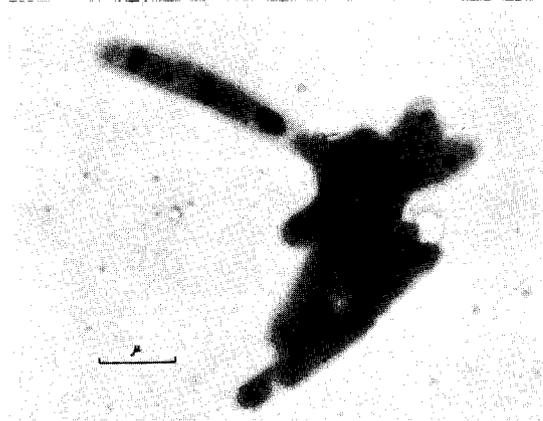


図 16 *M. tuberculosis* H₃₇Ra 株, Dubos 培養
24 時間の菌, $\times 20,000$

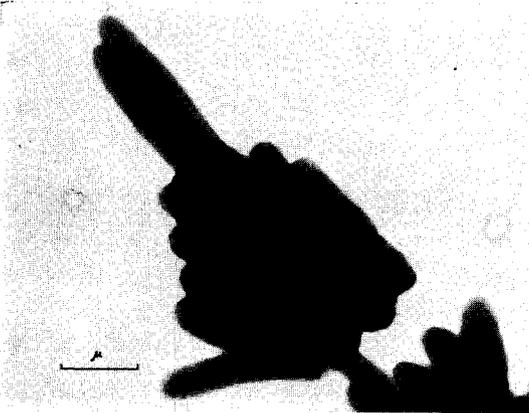


図 14 *M. intracellulare* P2 株, Dubos 培養
24 時間の菌, $\times 20,000$

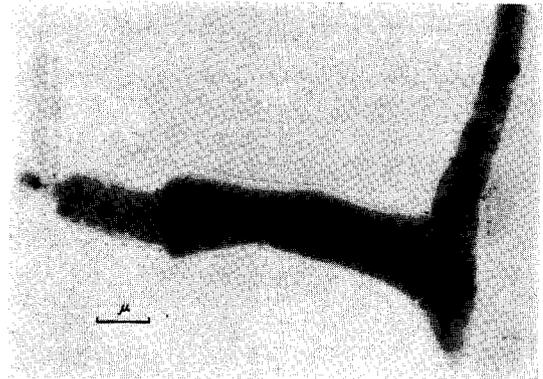


図 17 *M. bovis* BCG, Dubos 培養
24 時間の菌, $\times 16,000$

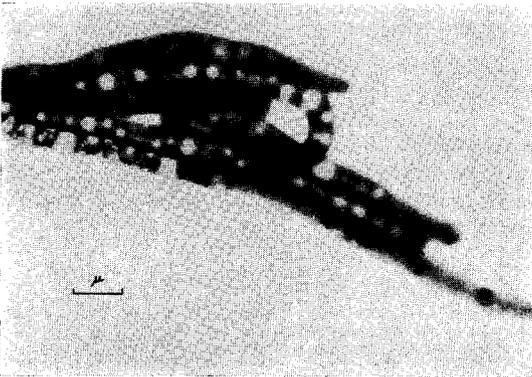


図 15 *M. gastri* A15754 株, Dubos 培養
24 時間の菌, $\times 14,000$

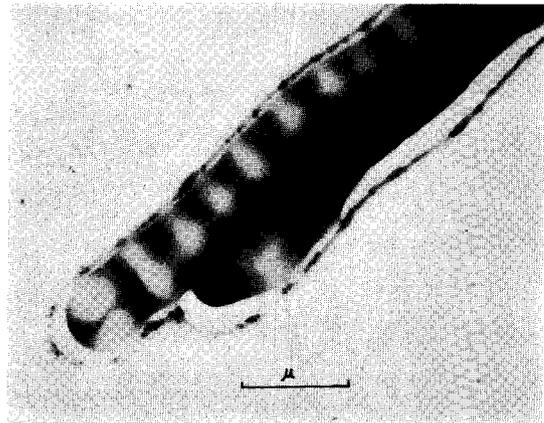


図 20 *M. kansasii* P16 株, Dubos 培養
24 時間の菌, $\times 28,000$

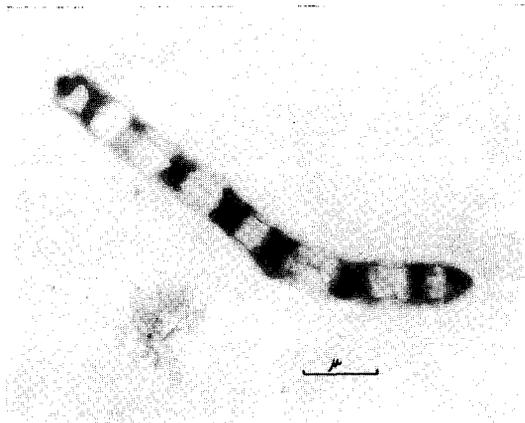


図 18 M. Ransasii P16 株, Dubos 培養 18 時間の菌, 予め Ziehl-neelsen 染色を行なった後撮影した電顕写真, $\times 20,000$



図 19 図 18 と同一の菌の光顕写真