抗酸菌の発育に及ぼす *Candida albicans* の影響

浅 原 芳 資

熊本大学医学部第一内科教室 (指導 河盛勇造教授)

1. 緒言

真菌症の増加或は真菌と結核菌との共存については、O'Leary¹⁾, Bruck²⁾, Lang³⁾, Chick⁴⁾ 等の報告がみられる。そのうち *Candida* に起因するカンジダ症は肺結核に続発しておこることが多く、これに関しては美甘⁵⁾, Greer⁶⁾, 河盛⁷⁾等の報告がある。また肺結核患者喀痰からの *Candida albicans* (以下 *C. alb.* と略記) 検出については、堂野前⁸⁾, 森崎⁹⁾, 河盛⁷⁾等によりその高率なことが報告されている。一方カンジダ症と結核との関係について、Greer⁶⁾, Larkin¹¹⁾ 等の報告があり、肺内真菌感染は結核菌の病原性を増強し、その予後を甚しく不良にすると述べている。またこれ等2種の菌についての実験的研究も若干の報告がみられる。即ち上塚¹²⁾, Mankiewicz¹³⁾, 奥山¹⁴⁾, 占部¹⁵⁾等は *C. alb.* の培養濾液が結核菌の発育を促進したと述べ、一方上塚¹⁷⁾, 横井¹⁸⁾, 奥山¹⁴⁾, 占部¹⁹⁾等は結核菌の培養濾液が *C. alb.* の発育を促進することを認めている。これに対し松垣²⁰⁾, 河村²¹⁾等は結核菌の増殖に対して、*C. alb.* は何等の影響も与えないと述べている。しかし抗酸菌の発育形態を指標とした研究は少く、Goldman²²⁾ は人型結核菌 H₃₇ Ra が細菌の迷入でコード形成の影響をうけたことを報告しているにとどまる。なお抗酸菌の発育に対して *C. alb.* が促進的に働く本態として、Mankiewicz¹³⁾ は菌体多糖体をあげて

いる。著者は *C. alb.* の培養濾液が抗酸菌の発育形態にいかなる影響を与えるかについて検討したので、その成績を報告する。

2. 結核菌集落の早期検出に及ぼす *C. alb.* の影響

実験材料および方法

実験に用いた *C. alb.* 菌株は大阪大学堂野前内科から分与を受けた *C. alb.* 1038, 1040, 588, 7469 (順天堂), 竹尾 (髄液) の5株である。また比較のため *Cryptococcus*

neoformans (以下 *Cr. neof.* と略記) 820, Deutch の2株を使用した。結核菌培養のための培地は1%小川培地である。塗抹により抗酸菌を証明する患者喀痰を型の如く前処置した上、小川培地に塗擦37°C, 5日間培養の後、予め Sabouraud 葡萄糖寒天培地(以下 S-寒天培地と略記)に2日間培養した *C. alb.* の生食水浮游液(2白金耳/cc)を0.2~0.3cc 宛小川培地表面にうるほす様に添加し、更に室温において、3日後から10日後まで発育状況を観察した。対照として同じ操作を *C. alb.* の代りに *Cr. neof.* を用い、又喀痰を培養しない小川培地に *C. alb.* 菌液のみ接種したものをを用いた。培地に発育した集落は *C. alb.* 並びに抗酸菌であることを鏡検により確め、そのうち抗酸菌については菌塊と見なされ得るもの、および菌増殖が確実と考えられるもののみをとることとし、たとえば少くも5個以上の菌集団を結核菌陽性とした。

実験成績

第1表の如く *C. alb.* 1040株を使用したものは19例、1038株では20例に何れも *C. alb.* を接種して約3日後からクリーム状白色の集落が発生し、1週後まで漸増の傾向が認められた。発生した集落が *C. alb.* であることを鏡検で確めたが、そのうち抗酸菌陽性であったものは何れも観察日6日目以後であり、10日後には前者で3例、後者で8例を認めた。1%小川培地に *C. alb.* 菌液のみ接種した対照においては、集落の発生は認められなかつた。更にこの現象を *C. alb.* の数菌株について比較検討した結果、第2表の成績を得たが *C. alb.* 1038, 1040, 588, 7469, 竹尾の各株使用の場合に比し、患者喀痰から分離した *C. alb.* の菌株を使用した場合は、発生集落数は多いが結核菌陽性例は少数にとどまつた。すなわち前者では比較的高率であり、そのうちでも *C. alb.* 1038株では20例中8例に結核菌を認め得た。*C. alb.* 588, 7469, 竹尾株では結核菌検出は陰性におわつた。第2表に見る如く発生した集落から結核菌陽性を示したものは *C. alb.* 1038, 1040株並びに分離株桑田 (痰), 星子 (痰) であるが、これを同一の喀痰について実験比較した成績

Yoshisuke ASAHARA: The Effect of *Candida albicans* on the Growth of Acid Fast Bacilli, from the 1st Department of Internal Medicine, School of Medicine, Kumamoto University.

表1 結核菌分離培養に及ぼす *C. alb.* 菌液添加の影響1) *C. alb.* 1040株, 例数19

	観 察 日	3 日	5 日	6 日	7 日	10 日
<i>C. alb.</i>	<i>C. alb.</i> 集落発生累計	13	13	13	16	19
添 加	結 核 菌 陽 性	0	0	1	1	3
<i>C. alb.</i> 非添加	結 核 菌 集 落 発 生 数	0	0	0	0	0

2) *C. alb.* 1038株, 例数20

	観 察 日	3 日	5 日	6 日	7 日	10 日
<i>C. alb.</i>	<i>C. alb.</i> 集落発生累計	1	1	5	6	12
添 加	結 核 菌 陽 性	0	0	2	3	8
<i>C. alb.</i> 非添加	結 核 菌 集 落 発 生 数	0	0	0	0	0

表2 結核菌集落発生に及ぼす *C. alb.* の影響

使用 <i>C. alb.</i> 菌株	小川培地上 発 育 状 況	例 数	結 核 菌 陽 性 例	
1038	難	20	8	
1040	〃	19	3	
588	〃	7	0	
7469	〃	17	0	
竹 尾	〃	17	0	
分 離	右田 (肺)	易	17	0
	桑田 (痰)	〃	7	1
	星子 (〃)	〃	7	2
	武田 (〃)	〃	7	0

は第3表である。すなわち喀痰7例が示した集落中結核菌陽性は *C. alb.* 1038, 1040, 桑田 (痰), 星子 (痰) でそれぞれ4, 2, 1, 2個あり *C. alb.* 1038株で最も高率であり喀痰では何れもガフキー4号以上のものであつ

表3 *Candida* 集落中結核菌証明の菌株差

被 検 喀 痰		使用 <i>C. alb.</i> 菌株			
番号	ガフキー 号 数	1038	1040	桑田痰	星子痰
I	3	0	0	0	0
II	3	0	0	0	0
III	4	0	0	0	0
IV	4	0	1	0	0
V	5	1	0	0	0
VI	5	2	0	1	1
VII	7	1	1	0	1
計		4	2	1	2

た。又 *C. alb.* の代りに *Cr. neo.* を使用して同様の実験を17例について行つたものでは何れも観察期間内に集落の発生をみなかった。

3. 抗酸菌の発育形態に及ぼす *C. alb.* の影響

実験材料および方法

実験に用いた菌株は *C. alb.* 588株でその培養濾液は Sabouraud 液体培地 (以下 S-液体培地) に2日間培養の後 Seitz 濾過管で濾過した濾液である。

抗酸菌は教室保存株の鳥型竹尾株, BCG竹尾株並びに非定型抗酸菌 P_6 , P_7 , P_8 の各株で、何れも Dubos 培地に継代した菌株を実験にあたりそのつど Tween 80を0.05%および牛血清10%添加した Dubos 液体培地に2代継代培養してその1日乃至7日培養の菌液を使用した。なお供試抗酸菌は全て培地に接種前 Seitz 濾過管又は濾紙で濾過した濾液を用い、染色鏡検し菌塊のないことを確認して使用した。

使用培地はコード形成を容易にするために、Dubos 基礎培地にアルブミンを添加する代りに牛血清5%, 10%及び Tween 80を0%, 0.01%, 0.05%の割合に添加して使用した。

実験にあたり操作は無菌的に行つたが、その一部には Penicillin G 100u/cc の割合に添加し各抗酸菌は0.1cc接種して、培養中毎日2回手ぶりにより振盪を加えた。

成績の判定は培養の一部をとり経目的に、Ziehl-Neelsen 法で染色し鏡検は弱拡大で行い、コード形成を確認したものについては強拡大で各個菌の並行配列並びに結合の状態を検討したのち、次の如く分類して記載した。

定型的なコード形成 (所謂蛇行状)卐

コード状をなすが一部分岐卐

菌は相互に並行配列を示すが各個菌の結合は粗十
不規則な配列又は不定形の集団一

実験成績

a) *C. alb.* 培養濾液の影響

本実験において対照には *C. alb.* 培養濾液を添加せず抗酸菌のみ接種したもの並びに培養濾液の代りに S-液体培地を添加したものとし更に鳥型菌使用例においては、*C. alb.* の代りに *Cr. neo.* 820の S-寒天培地2日間培養を S-液体培地に接種して培養し、*C. alb.* の場合と同じ操作により得た培養濾液を使用した。

i) 鳥型菌

Dubos 培地5ml に鳥型菌1日培養後 *C. alb.* 培養液0.1ml 並びに培養濾液0.1ml, 0.2ml, 0.5ml を添加した。成績は第4表の如くで *C. alb.* 培養濾液添加即

表4 鳥型菌竹尾株のコード形成に及ぼす *C. alb.* の影響

<i>C. alb.</i> 添加		牛血清 %	T. 80 %	コード形成		
				2日	4日	7日
0		5	0	—	—	—
		10	0.01	—	—	—
			0.05	—	—	—
培養液	* 0.1/ 5ml	5	0	—	—	—
			0.01	—	—	—
			0.05	—	—	—
		10	0	—	—	++
			0.01	—	—	—
			0.05	—	—	—
培養液	** 0.1/ 5ml	5	0	++	—	—
			0.01	—	—	—
			0.05	—	—	—
		10	0	—	—	—
			0.01	—	—	—
			0.05	—	++	—
	*** 0.2/ 5ml	5	0	+	—	—
			0.01	—	—	—
			0.05	—	—	+++
		10	0	—	+	—
			0.01	+	+	++
			0.05	—	—	—
液	*** 0.5/ 5ml	5	0	++	—	—
			0.01	—	—	++
			0.05	++	—	—
		10	0	—	+	—
			0.01	+	—	+++
			0.05	++	—	+

註) * ...Dubos 培地 5 ml に *C. alb.* 培養 0.1ml 添加
 ***...Dubos 培地 5 ml に鳥型菌培養 1 日後に *C. alb.* 培養濾液 0.1, 0.2 又は 0.5 ml 添加

ち 0.1ml, 0.2ml, 0.5 ml 添加例の一部に十~++のコード形成が認められ, 特に 0.5 ml 添加に著明である. コード形成は *C. alb.* 培養濾液の添加量を増すと共に高率に認められた. 一方 *C. alb.* 培養濾液非添加例では集団を形成したものでも何れも不規則の排列として観察され, コード形成は認められない. 又 *Cr. neof.* 820 の培養濾液添加例にはコード状配列を認めず, S-液体培地添加例でも同様であった.

II) BCG

C. alb. 培養濾液はBCG接種後1日及び4日目に接種し培養7日, 10日後に観察を行った. 第5表, 第6表の如く *C. alb.* 培養濾液非添加時は Tween 80 非添加, 血清10%添加の場合にのみコード形成をみたが, *C. alb.* 培養濾液添加時には Tween 80 添加時にも認められ, 且つ早期に出現の傾向があつた. なお濾液添加は1日後よりも4日後に影響が著るしかつた. 対照例ではコード形成は陰性におわつた.

表5 BCG竹尾株のコード形成に及ぼす *C. alb.* 培養濾液1日後添加の影響

<i>C. alb.</i> 培養濾液	牛血清 %	T. 80 %	コード形成	
			7 日	10 日
0	5	0	—	++
		0.01	—	+
		0.05	—	—
	10	0	—	++
		0.01	—	—
		0.05	—	—
0.1/ 5 ml	5	0	+	+
		0.01	—	++
		0.05	—	—
	10	0	—	++
		0.01	—	++
		0.05	—	—
0.2/ 5 ml	5	0	++	++
		0.01	+	++
		0.05	—	—
	10	0	—	++
		0.01	—	++
		0.05	—	—
0.5/ 5 ml	5	0	—	—
		0.01	—	++
		0.05	—	—
	10	0	—	—
		0.01	—	—
		0.05	—	—

表6 BCG竹尾株のコード形成に及ぼす *C. alb.* 培養濾液4日後添加の影響

<i>C. alb.</i> 培養濾液	牛血清 %	T. 80 %	コード形成	
			7日	10日
0	5	0	—	++
		0.01	—	+
		0.05	—	—
	10	0	—	++
		0.01	—	—
		0.05	—	—
0.1/ 5 ml	5	0	—	++
		0.01	++	++
		0.05	—	—
	10	0	—	+++
		0.01	—	+++
		0.05	—	—
0.2/ 5 ml	5	0	—	+++
		0.01	++	+
		0.05	—	—
	10	0	—	+++
		0.01	—	+++
		0.05	—	—
0.5/ 5 ml	5	0	++	+
		0.01	—	—
		0.05	—	—
	10	0	—	—
		0.01	—	+++
		0.05	—	—

Ⅲ) 非定型抗酸菌

実験 i) 前回鳥型菌の実験では血清10%添加が5%添加より比較的多くコード形成を示したので、今回は牛血清10%加 Dubos 液体培地を用いて *C. alb.* 培養濾液 0.1 ml, 0.5ml, 1 ml を添加し全量 5 ml になるようにした。

P₇ 株に対しては第7表の如く濾液少量添加及び対照にはコード形成はみられなかつたが、Tween 80非添加、濾液 0.5 ml, 1 ml 添加ではその一部に蛇行状のコード形成を認めた。P₇ 株では *C. alb.* 培養濾液添加によってもコード形成は陰性であつた。P₈ 株では第8表の如く対照のコード形成は大部分十で一部に卅が認められたのに対し、Tween 80非添加、濾液 0.5ml 添加の一部に典型的なコード形成を、又 Tween 80添加でもコード形成を示すものが高率に認められた。

表7 P₈ 株のコード形成に及ぼす *C. alb.* 培養濾液の影響

<i>C. alb.</i> 培養濾液	T. 80 %	コード形成		
		3日	7日	10日
0	0	—	—	—
	0.01	—	—	—
	0.05	—	—	—
0.1/ 5 ml	0	—	—	—
	0.01	—	—	—
	0.05	—	—	—
0.5/ 4.5ml	0	—	—	卅
	0.01	—	—	十
	0.05	—	—	—
1/ 4 ml	0	—	卅	—
	0.01	十	十	—
	0.05	—	—	—

S—液体培地添加によるコード形成 (—)

表8 P₈ 株のコード形成に及ぼす *C. alb.* 培養濾液の影響

<i>C. alb.</i> 培養濾液	T. 80 %	コード形成		
		3日	7日	10日
0	0	—	十	卅
	0.01	十	十	十
	0.05	—	十	十
0.1/ 5 ml	0	—	十	十
	0.01	十	十	十
	0.05	—	十	—
0.5/ 4.5ml	0	—	卅	卅
	0.01	十	十	卅
	0.05	—	—	—
1/ 4ml	0	十	十	十
	0.01	—	十	卅
	0.05	—	—	卅

実験 ii) コード形成性を有しない P₈ 株を使用した前回の実験では *C. alb.* 培養濾液 0.5 ml, 1 ml 添加の一部に典型的なコード形成を認めたので再現性を検討し濾液添加量が0.5 ml と 1 ml の間のどの濃度で最も影響が大きいかを知るために同じく P₈ 株を使用して培養濾液添加量は夫々 0.6ml, 0.7 ml, 0.8ml, 0.9 ml とし全量 5 ml になるようにした。第9表の如く濾液 0.5 ml 及び 1 ml の添加量の間では何れも十〜卅のコード形成を示し、特に有意の差を認めなかつた。

表9 P₈ 株のコード形成に及ぼす各濃度の *C. alb.* 培養濾液添加

<i>C. alb.</i> 培養濾液	T. 80 %	コード形成		
		3日	7日	10日
0	0	—	—	—
	0.01	—	—	十
0.6/ 4.4 ml	0	—	十	—
	0.01	—	卅	十
0.7/ 4.3 ml	0	—	十	—
	0.01	—	—	—
0.8/ 4.2 ml	0	—	卅	十
	0.01	—	—	—
0.9/ 4.1 ml	0	十	十	十
	0.01	—	—	卅

b) 加熱濾液の影響

C. alb. 588株を3日間蒸溜水に懸濁した液と同じ菌株を3日間 S-液体培地に培養した濾液を夫々 60°C, 30分間加熱したもので前者はさらに Seitz 濾過管で濾過した濾液を両者共 0.1 ml, 0.5 ml 添加して全量 5 ml になるようにした。牛血清10%添加の Dubos 培地を使用し、抗酸菌として鳥型菌を用いた。以下の実験でも同様である。

第10表の如く加熱した蒸溜水浸出液の濾液並びに S-液体培地培養濾液の添加は何れも 0.5 ml 添加時にコード形成を多く認め更に加熱培養濾液添加例の方がコード形成は高率であつた。

c) 除蛋白濾液の影響

C. alb. S-液体培地培養濾液にトリクロール醋酸を、終末5%になる如く添加し、よく振盪してその上清をとつた。これを除蛋白濾液として、抗酸菌接種後2日目の Dubos 液体培地に 0.1ml, 0.5ml, 1 ml づつ添加し、全量 5 ml になるようにした。成績は第11表の如くその添加量を増すと共にコード形成は著明となり、特に 0.5 ml 添加では顕著であつた。

d) 除多糖体濾液の影響

表10 鳥型菌竹尾株のコード形成に及ぼす加熱濾液の影響

加熱 処置	<i>C. alb.</i> 添 加	T. 80 %	コード形成			
			3 日	5 日	7 日	
	0	0	—	—	—	
		0.01	—	—	—	
		0.05	—	—	—	
	0.1/ 5 ml	0	+	—	+	
		0.01	+	+	+	
		0.05	—	+	+	
蒸 溜 出 水 液	0.5/ 4.5 ml	0	+	—	+	
		0.01	+	—	+	
		0.05	++	++	+	
	S 地 液 培 養 体 培 地	0.1/ 5 ml	0	+	+	+
			0.01	+	+	+
			0.05	+	+	+
0.5/ 4.5 ml		0	+	++	+	
		0.01	++	+	++	
		0.05	—	—	—	

表11 鳥型菌竹尾株のコード形成に及ぼす除蛋白濾液の影響

濾液 添加 培地	T. 80 %	コ ー ド 形 成		
		3 日	5 日	7 日
0.1/ 4.9	0	—	+	+
	0.01	+	+	+
	0.05	+	+	—
0.5/ 4.5	0	—	+	—
	0.01	+	+	+
	0.05	+	+	+
1/ 4	0	—	+	—
	0.01	+	+	+
	0.05	+	+	+

C. alb. 培養濾液にフェニールヒドラゾンを経地組成の含水炭素 2 g に対して 2.5 g の割合にて添加し、よく振盪して 60°C、2 時間煮沸したものを濾過した後、苛性ソーダにて P_H 8 に調整。再び濾過した濾液を除多糖体濾液として使用した。抗酸菌接種 2 日目の Dubos 液体培地にその 0.1ml, 0.5ml, 1 ml を添加した。第12表の如くコード形成は+にとどまり どの添加量でも同じ程度に認められた。

e) *C. alb.* 菌体多糖体の影響

Mankiewicz¹³⁾ の方法に従い菌体より多糖体を抽出した。すなわち *C. alb.* を S-寒天培地で 5 日間培養し生理的食塩水を以て菌体を 2 回洗滌して 20 g を得た。次に菌体を蒸留水に浮游し約 3 時間振盪し、遠心後上清をとりこれを 30ml 迄減圧濃縮した。その濃縮液を等量クロロホルムで 3 回抽出して上層を水道水にて 20 時間、さらに蒸留水にて 16 時間透析し得た内液に 3 倍量エタノール

表12 鳥型菌竹尾株のコード形成に及ぼす除多糖体濾液の影響

濾液 添加 培地	T. 80 %	コ ー ド 形 成		
		3 日	5 日	7 日
0.1/ 4.9	0	+	—	+
	0.01	+	—	—
	0.05	—	—	—
0.5/ 4.5	0	—	+	+
	0.01	+	+	+
	0.05	—	+	+
1/ 4	0	—	—	+
	0.01	—	+	+
	0.05	—	+	—

を加えて沈澱物を得た。この沈澱物を蒸留水に溶解して再び遠心し、その上清に 3 倍量 エタノール を加え遠心し、淡黄色の沈澱物質 200mg を得た。

牛血清 10%, Tween 80 を 0.05% 添加の Dubos 培地にこの多糖体を 1 mg/ml, 10 mg/ml 添加。鳥型菌は Dubos 培地 5 日培養の 2 倍並びに 4 倍稀釈液を使用し 3 日, 7 日後に観察した。その結果第13表に示した如く多糖体添加によるコード形成は著明に認められた。

表13 鳥型菌竹尾株のコード形成に及ぼす菌体多糖体の影響

鳥型菌 稀釈液	多 糖 体 添 加	コ ー ド 形 成	
		3 日	7 日
2 倍	1mg	+	—
	10mg	+	+
4 倍	1mg	+	+
	10mg	+	+

f) *C. alb.* 菌体蛋白の影響

S-寒天培地に *C. alb.* を 5 日間培養し、その菌体を掻き取り 0.1M クエン酸ソーダ溶液で洗滌した菌体をアセトンエーテル混合液により 2 日間脱脂し、沈澱を 5 倍量の蒸留水で 2 日間抽出。濾液を 1/5 量に濃縮しトリクロール醋酸を加えて生じた沈澱を P_H 8 の蒸留水に溶解、透析後濾液に再びトリクロール醋酸を加え、生じた沈澱を乾燥させた。菌体湿菌量 20 g から約 20 mg の白色粉末を得た。

前回と同じ内容の Dubos 培地 4 ml に菌体蛋白を 1 γ /ml, 10 γ /ml, 20 γ /ml の割合に添加して抗酸菌を接種した。その結果菌体蛋白の添加はどの濃度でもコード形

成は十又は一で、典型的なコード状排列は観察し得なかつた。

4. 抗酸菌の毒力に及ぼす *C. alb.* の影響

実験材料および方法

C. alb. 培養濾液は *C. alb.* 588株を S-液体培地に2日間培養した培養濾液であり又対照としては S-液体培地を使用した。供試抗酸菌は鳥型竹尾株および非定型抗酸菌 P_6 株である。供試マウスは dd 系雄或は雌を実験にあたり統一したもので、何れも体重約15gのものを1群各5匹宛使用した。

菌液の調製は市販の Dubos 培地（栄研）に *C. alb.* 培養濾液並びに S-液体培地を、夫々10%の割合に添加したものに抗酸菌を接種して培養した。すなわち鳥型菌は5日間、 P_6 株は7日間培養して得たものである。

以下の記載では何れも、培養濾液を添加したものをA群、S-液体培地のみを添加したものをB群とした。

実験はマウスの尾静脈接種法により菌液 0.1ml にて行つた。

接種生菌数は鳥型菌ではA群、 5×10^6 、B群 1×10^6 、又 P_6 株ではA群、 1.3×10^6 、B群 9×10^6 である。

マウスは抗酸菌接種後1日、3日、5日、7日、10日後に屠殺剖検して腎膿瘍を観察し又肺、脾、腎について臓器培養を1%小川培地を使用して定量的に実施した。

実験成績

成績は第14図、第15図の如くで臓器の培養では P_6 で

図14 鳥型菌の毒力に及ぼす *C. alb.* 培養濾液の影響。マウス肺

図14 鳥型菌の毒力に及ぼす *C. alb.* 培養濾液の影響。マウス脾

図14 鳥型菌の毒力に及ぼす *C. alb.* 培養濾液の影響。マウス腎

は菌の消長は A, B 群間に著明な差異はみられなかつた。鳥型菌接種の場合、腎よりの培養でA群がB群よりやや多くの菌数を証明した。しかし第16表の如く腎膿瘍数の比較では殆ど差がみられなかつた。

5. 総括並びに考按

肺結核患者喀痰から *C. alb.* が高率に検出されることから結核菌と *C. alb.* の相互的影響が古くから注目されて来た。Greer⁽⁶⁾¹⁰⁾ は肺結核患者喀痰から真菌を検出し得た21人のうち、約半数は気管支から *Candida* 及びその他の真菌を検出し、しかもその検出例の結核症は何れも

図15 P_6 株の毒力に及ぼす *C. alb.* 培養濾液の影響 図15 P_6 株の毒力に及ぼす *C. alb.* 培養濾液の影響 図15 P_6 株の毒力に及ぼす *C. alb.* 培養濾液の影響 表16 鳥型竹尾株 P_6 株の菌液接種による腎膿瘍数*

マウス菌	観察日	
	7 日	10 日
鳥型竹尾株	A	6
	B	5
P_6 株	A	16
	B	9

* 腎膿瘍数は左右合計

A 群: *Candida* 培養 S-培地濾液10%添加

B 群: S-液体培地10%添加

進行性のものであつたところから、結核患者肺内真菌感染は結核菌の病原性を増大又は促進させるか、抵抗力の低下を来すと述べている。又 Larkin¹¹⁾ は両者の混合感染は病巣の悪化を来し予後を甚しく不良にし、これは宿主の抵抗力の低下とともに真菌感染に対する処置が結核症に有害な影響を与えるためであるとしている。又気管支洗滌液、空洞内容、切除肺から真菌を分離する試みが河盛⁷⁾、堂野前⁸⁾、大江²³⁾、会沢²⁴⁾、中村²⁵⁾、岩崎²⁶⁾、堀²⁷⁾等によつてなされたが、その検出率は河盛⁷⁾は肺病巣所属気管支開口部から 5.4%，空洞内容から48例中2例、岩崎²⁶⁾は切除肺 778例から8例、堀²⁷⁾は切除肺病巣部45例中15例が陽性と報告し、その意義について河盛²⁸⁾は気管支の炎症をおこし、そのため近接空洞内結核菌の気管支性散布を容易にする可能性があるとしている。

結核菌と *Candida* との相互的影響に関する実験のうち上塚¹⁷⁾は結核病巣そのものが既に、*Candida* の発育に好適な場所となりうると述べている。更に Mankiewicz は Löwenstein 培地を用いて人型結核菌 $H_{37}R_v$ を5日間培養した培地に *C. alb.* の食塩水浮游液を添加することにより、3日後に $H_{37}R_v$ の集落のあるところに一致して *C. alb.* の集落の発生を見、この集落を鏡検して *Candida* と結核菌を認めたことを報告している。上塚¹²⁾は $H_{37}R_v$ を小川培地に接種し1週後 *Candida* の生菌浮游液を添加して結核菌集落の上に *Candida* の集落が発生した。又小川培地に稀釈ツ液、加熱結核死菌液の一定量を加えると *Candida* の発育を容易にすると述べている。

河村²¹⁾は *C. alb.* と結核菌を Dubos-Albumin 培地、Albumin 非添加 Dubos 培地での同時培養で *C. alb.* の増殖が促進されたが結核菌には影響がないと報告している。

著者も前述の Mankiewicz²⁹⁾ の実験を追試した結果、小川培地に *C. alb.* 菌液のみ接種しても集落の発生をみないが、結核菌陽性の患者喀痰を塗擦した培地上では、クリーム状のやや湿潤した白色の集落が早期に発生することを認めた。この集落は *C. alb.* の純培養と殆ど同一であり、表面を擦過して染色鏡検した結果ではどの例でも *Candida* を認め得た。更に集落内部からの採取により結核菌を証明する試みでは *C. alb.* 菌株によつて差異が認められたが、そのうちで *C. alb.* 1038株使用において最も多く検出された。結核菌を証明しうる集落では必ず *Candida* を検出しえ、且つその発生は早期に認められた。奥山¹⁴⁾はこの集落の横断切片標本を観察して結核菌の上層に *C. alb.* が発育するのみでなく、*C. alb.* の上層にも結核菌が発生し所謂相互的共生の形態を報告している。

何れにしても結核菌が *C. alb.* の発育を促進することについては諸家の報告は殆ど一致しているようであるが *C. alb.* が結核菌の発育を促進するか否かについては異論があるところであるが、著者の実験では促進的である結果が得られた。

次に著者は Dubos 液体培地を用いて鳥型結核菌竹尾株、非定型抗酸菌 P。株その他の抗酸菌が *C. alb.* 培養濾液添加によりその発育形態にいかなる変化を来すかを観察した。

Goldman²²⁾ は $H_{37}Ra$ を塗抹した培地に、*Micrococcus epidermidis* が迷入して汚染がおこり、その部分に発育した $H_{37}Ra$ 株にコード形成が認められたことを報告している。

著者は *C. alb.* 培養濾液を添加することによりコード形成を観察したが、濾液の代りに S-液体培地のみを添加した培養或は対照として濾液並びに S-液体培地非添加の鳥型菌、P。菌のみの培養では菌の配列は不定で、集団化したものでも不規則且つ無方向であり、何れもコード形成をみなかつたのに対し、*C. alb.* 培養濾液添加によつて、ある程度のコード状配列を証明し得た。このコード形成は毒力株のそれと比較して遅しさの点で若干劣るけれども強拡大鏡により各個菌の密な結合、長軸方向への一定配列から形態上当然コード形成と言いうるものであり、しかもその一部には典型的な蛇行状配列さえも認めた。

この様に *C. alb.* 培養濾液を添加して抗酸菌の発育形態を観察した報告は未だ見当たらない。神田³⁰⁾は1糸状菌即ち Fungi Imperfecti N, et K. の結核菌発育促進作用について報告し、人型結核菌青山 B 株との共生で対照に

も Cord formation は観察されるが共生群では明らかにその程度が大であつたと報告している。著者も *Aspergillus fumigatus* の培養濾液を添加した Dubos 培地に鳥型菌を接種培養してその一部に単なる並行配列を認めたが、コード形成と認められるものを観察し得なかつた。

Goldman³¹⁾ は *Micrococcus epidermidis* をイースト抽出物とブドウ糖を加えた Dubos 液体培地に培養してこの培養液から粗なコード形成因子を含む物質を抽出した。この物質は蛋白質20~25%、多糖体20~50%、脂肪1~2%を含む因子である。著者は *C. alb.* の菌体蛋白並びに多糖体の鳥型菌に対するコード形成促進性について検討した結果、むしろ多糖体にその作用が著明であることを観察しえたことから、コード形成に関しては、*C. alb.* の菌体多糖体が促進的な作用を有すると考える。

C. alb. 培養濾液が抗酸菌の発育を促進させるか否かについては諸家の見解は一致していない。松垣²⁰⁾は *C. alb.* を培養した S-液体培地並びに培養濾液について人型結核菌の呼吸及び発育に及ぼす影響を検討し *C. alb.* 培養後の S-液体培地又はその濾液には結核菌発育促進物質は含まれない。それは人型結核菌に阻制的に作用する物質が *C. alb.* の代謝産物中に含まれていたかも知れないと述べている。上塚¹²⁾は *C. alb.* 培養濾液が、Youmans 培地、Dubos 培地中の人型結核菌 $H_{37}Rv$ 及び鳥型菌に対し発育促進的に作用する。奥山¹⁴⁾は Kirchner 培地に濾液を添加すると結核菌の発育が促進されるとしている。一方林³²⁾は *Candida* 死菌の水抽出物は10%で $H_{37}Rv$ の発育を抑制したとしている。占部⁵⁾¹⁴⁾は *C. alb.* 培養濾液は人型結核菌の発育を促進しその促進物質は糖分画にあり蛋白質は抑制的で、しかして *C. alb.* 濾液そのものの観察でブドウ糖は培養日と共に減少しグリセリン、Pentose 様物質の出没、アミノ酸の出現を確認して、この糖質の消長が結核菌発育に促進的に働くのではないかとしている。著者のコード形成の観察でも Pepton Glucose をその培地成分中に含む S-液体培地添加を対照として実施したのであるが、その結果ではコード形成は認められなかつたので、*C. alb.* の発育に未利用の形では抗酸菌増殖の発育の形態又は菌の配列には何等影響を与えないと考えられる。又抗酸菌の側からみると単個菌が培地中に添加されたコード形成因子の影響を均等に受け、コード形成に好都合な状態にある単個菌が結合するものと推測される。Goldman²²⁾³¹⁾ が抽出したコード形成因子は、 $H_{37}Ra$ は普通コードを形成しないがこの因子を加えた培地に培養するとコードを形成するようになったと報告

し、又 H_3 Ra が Cord factor 産生に遺伝的障害があると考えられるのに対して *Micrococcus epidermidis* がこの障害を代償する因子を培地中に分泌するからであると推定している。*C. alb.* 培養濾液中の抗酸菌発育促進物質については Mankiewicz は菌体多糖体、奥山¹⁴⁾は前述の両菌が相重層しあう集落の横断切片並びに濾液が結核菌増殖を促進する所見から、*C. alb.* の代謝産物又は菌体成分中に存在することは明らかであると述べている。

占部¹⁵⁾は上述の如く糖分画を、神田³²⁾は1糸状菌の培養濾液 100 ml から 0.2 g、菌体 2.5 g から 0.4 g 抽出し得た脂質をあげている。

実験条件については Melvin³⁴⁾ は人血清添加がコード形成能を高めるとし、Vandivier³⁵⁾ は培地の量、深さ、接種菌量が関係すると報じているが、著者は牛血清 5%、10% 添加による Dubos 培地に於て培養し 5.5 分の試験管で菌量 0.1 ml 接種により実験を行つたものである。

著者はさらに毒力の変化を追及したが *C. alb.* 培養濾液添加により鳥型菌並びに非定型抗酸菌 P_6 株にコード形成を呈したもののでも、マウスに対する毒力の上昇は確認し得なかつた。Yegian³⁶⁾ は人型結核菌 H_3 Rv 株から分離した SM 依存菌をモルモットに接種して何等病変を示さなかつたにもかかわらず、人血清添加培地に培養してコード形成を認めたと報告している。抗酸菌の毒力判定として動物実験、コード形成或は中性紅反応は必ずしも平行関係にない。コード形成と中性紅反応についてみて Richmond³⁷⁾ は *Micobacterium spp* “radisch bacillus” がコードを形成し中性紅反応陽性であるが無毒であると報告し、Krausnow³⁸⁾ はこの菌は中性紅反応陽性であるがコードを形成しないと述べている。従つて、Goldman³⁹⁾ はコード形成、中性紅反応は色々な条件で左右されるからその結果で毒力を云々することはできないとしている。

Yegian³⁶⁾ もコードを作るものは必ずしも有毒でなく、又有毒株は全てコードを作るとは限らないと述べている。

著者が行つた動物実験はその接種菌液を Dubos 培地に *C. alb.* 培養濾液の添加培養液でコード形成を確認したものを用いたが *C. alb.* 菌体から分離した多糖体添加による培養液を菌液として用いた場合、どのような病原性変化を呈するかを、さらに検討する必要があると考える。

6. 摘要

C. alb. 並びにその培養濾液と鳥型、BCG、結核菌及

び非定型抗酸菌 P_6 , P_7 , P_8 各株との相互影響について実験を行い、次の成績を得た。

1. 結核菌培養に際して *C. alb.* 菌液を重層することにより結核菌集落証明を早期に且つ容易にする。*Cryptococcus neoformans* にはこの作用はない。

2. *C. alb.* 培養濾液を Dubos 培地に添加培養することにより鳥型菌、BCG 並びに P_6 , P_8 各菌の発育過程でコード形成を認めた。鳥型菌による実験で *Cryptococcus neoformans* にはこの作用はない。

3. コード形成に対して促進的に働くものは *C. alb.* の菌体多糖体である。

4. コード形成を認めた菌液をマウスに接種したが毒力の上昇を確認出来なかつた。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導御鞭撻を賜わり、御校閲いただいた恩師河盛勇造教授に心から感謝の意を表します。

文 献

- 1) O'Leary, D.J. and Curry, F.J.: Am. Rev. Tuberc., 173 : 501, 1956.
- 2) Bruke, R.M. & Wier, J.A.: Am. Rev. Tuberc., 75 : 921, 1957.
- 3) Lango, L.B., Harbuck, A.B. & Fleischmann, W.: Dis. Chest., 33 : 398, 1958.
- 4) Chick, E.W.: Am. Rev. Tuberc., 85 : 702, 1962.
- 5) 美甘義夫：結核, 26 : 521, 昭26年.
- 6) Greer, A.E.: Dis. Chest., 9 : 212, 1943.
- 7) 河盛勇造：結核, 27 : 477, 昭27年.
- 8) 堂野前維摩郷：日本内科学会雑誌, 44 : 477, 昭30年.
- 9) 森崎幸夫：名古屋医学, 71 : 595, 昭31年.
- 10) Greer, A.E.: Dis. Chest., 14 : 33, 1948.
- 11) Larkin, J.C. Tr. and Phillips, S.: Am. Rev. Tuberc., 72 : 667, 1955.
- 12) 上塚 昭：結核, 31 : 107, 昭31年.
- 13) Mankiewicz, E., Stakiewicz, E. and Liivalk, M.: Canad. J. Microbiol., 5 : 261, 1959.
- 14) 奥山 司：日本伝染病学雑誌, 15 : 654, 昭35年.
- 15) 占部 薫他：日本細菌学雑誌, 15 : 1078, 昭35年.
- 16) 占部 薫他：日本細菌学雑誌, 16 : 158, 昭36年.
- 17) 上塚 昭他：総合医学, 10 : 374, 昭28年.
- 18) 横井敏夫：結核の研究, 6 : 11, 昭32年.
- 19) 占部 薫他：日本細菌学雑誌, 15 : 225, 昭35年.
- 20) 松垣正昭他：広島医学, 4 : 165, 昭31年.
- 21) 河村洋太郎：大阪医学雑誌, 10 : 1007, 昭33年.
- 22) Goldman, E.C. and Goldman, D.S.: J. Bact., 70 : 353, 1955.
- 23) 大江一郎：奈良医学雑誌, 6 : 29, 昭30年.
- 24) 会沢五美：結核, 31 : 31, 昭31年.

- 25) 中村善紀他：日本臨床結核，16：107，昭32年。
26) 岩崎祐治他：医療，13—12：1034，昭31年。
27) 堀 道紀他：日本細菌学雑誌，15：201，昭35年。
28) 河盛勇造他：臨床と研究，36：16，昭34年。
29) Mankiewicz, E.: Am. Rev. Tuberc., 75：836, 1957.
30) 神田幸重：日本細菌学雑誌，9：857，昭29年。
31) Goldman, D.S., Anderson, D.G. and Goldman, E.C.: J. Bact., 77：21, 1959.
32) 林 力：東京慈恵会医科大学雑誌，74：2537, 昭34年。
33) 神田幸重：日本細菌学雑誌，9：935，昭29年。
34) Melvin, I.G. and Vandiviere, H.M.: Am. Rev. Tuberc., 78：83, 1958.
35) Vandiviere, H.M., Melvin, I.G. and Kennedy, H.E.: Am. Rev. Tuberc., 78：799, 1958.
36) Yegian, D. and Kurung, J.: Am. Rev. Tuberc., 65：181, 1952.
37) Richmond, L. and Cummings, M.M.: Am. Rev. Tuberc., 62：632, 1950.
38) Krausnow, J., Wayne, L.G. and Salkin, D.: Am. Rev. Tuberc., 71：361, 1955.
39) Goldman, E.C. and Goldman, D.S.: Am. Rev. Tuberc., 73：674, 1956.
(昭和41年7月11日受付)
-