

非定型抗酸性菌の電子顕微鏡的研究

東京女子医科大学細菌学教室 (主任 平野憲正教授)

山 田 三 郎
ヤマ タ サノ ロー

(受付 昭和 34 年 7 月 7 日)

緒 論

抗酸性菌の電子顕微鏡的研究については Von Borries, Ruska¹⁾ 以来非常に多くの業績が挙げられるが, Beaven,²⁾ Pinner,⁵⁾ Tarshis,⁴⁾ Gibson,⁵⁾ Timpe,⁶⁾ Pollak⁷⁾ らにより数多く報告されている所謂非定型抗酸性菌に関しては未だその研究がなされていない。著者は肺結核患者の喀痰から分離された抗酸性菌12株とモルモットに注射するとツベルクリン反応陽性を示す生牛乳から分離された抗酸性菌11株とについて結核菌及び恥垢菌の4株と対照しつつ電子顕微鏡的研究を行った。

材料及び方法

実験に用いた菌株は喀痰由来の抗酸性菌(大成, 市原, 長谷川, 磯川, 永井, 亀田, 木村, 福永, 岩井, 渡辺, 吉川, 大塚株)及び生牛乳由来の抗酸性菌(W11, W13, W19, W28, W29, W33, W35, W38, W43, W44, W46株)と結核菌(H37RV, BCG, 鳥型広島株)並に恥垢菌である。

以上の菌をソートン培地に2週間培養, 2代以上継代し, その微小片を50cc入Erlenmeyerコルベン及び試験管中のソートン培地に移植37°Cの孵卵器中で2週間培養し, 発育した菌膜を渦巻白金耳で採取して遠心用スピッツグラスの内壁で細碎し, 溜水を加えて2000回転10分間遠沈を2回繰返し, 沈渣の一滴をコロジオン膜上に滴下, 自然乾燥して試料とした。この場合溜水との接触により菌の受ける影響を均一にするため上記処理を可及的迅速に且時間を等しくならしめるように注意した。但し吉川株はソートン培地には発育しないのでDubos培地「栄研」を使用し, 木村株は強固な網様の菌膜を生じて沈澱するのでコルク片を使用して浮遊させた。

耐性菌の試料。教室の元山, 長川によりSM及び

INAH加小川培地で漸次高濃度継代によりSMでは7代目に, INAHでは5代目に各々10mg/cc耐性となった菌苔を直接ソートン培地に移植し, 2週後に発育した菌膜を上記と同様の方法で処理し試料とした。SM耐性株は渡辺, 福永, 永井及びW46株を耐性としたもの, INAH耐性株は福永及び永井株を耐性としたものである。

使用した電子顕微鏡は日本電子光学製のJEMT-1及びJEM-5Hであり, 前者では加速電圧50KVで後者では80KVで使用した。撮影は各試料毎に格子常数 $1/0.60$ mmのグレイチングレプリカを使用して倍率を測定し, 直接倍率4400倍, 5000倍, 6800倍, 105000倍で行った。菌の長さとは幅は4400倍の密着写真により測定し, その他観察は主として20000倍に引伸した写真について行った。

成 績

1) 発育の状態

2週間で最も良好な発育を示した菌株は広島株及び恥垢菌で, ついで永井, 大塚, W11, W13, W28, W29, W33, W35, W43, W44及びW46株, これについてH37RV, 長谷川, 磯川, 亀田, 岩井, 渡辺, 福永, W19及びW38株。最も発育が不良であつたのはBCG, 市原及び木村株であつた。この内市原株は液面に粘稠な流動状の菌膜を形成し, 福永株は菌膜形成が不良で5—6個の顆粒のみが集つて浮遊していた。著明にchromogenicな菌株は恥垢菌(オレンジ色), 渡辺(オレンジ色), 福永(黄色)及び永井株(黄色)である。吉川株は全く発育を示さなかつた。

2) 菌の長さとは幅(図1—図22, 及び図32)

各菌株毎に任意に100個の菌を抽出してNouiusを使用して測定した。表1に示すように対照菌株

表 1 菌 の 長 さ

菌株	長さ														平均値
	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0	6.5	7.0 μ	
H37RV			2	31	32	24	7	4							2.3
B C G		2	14	24	33	16	12								2.1
鳥型広島株		5	39	39	12	3	2								1.6
恥垢菌		10	53	30	4	2	1								1.4
大塚株	3	85	12												0.8
磯川株	1	67	31	1											0.8
長谷川株		55	41	4											1.0
岩井株		52	39	9											1.0
大成株		43	44	13											1.1
吉川株		28	39	20	9	4									1.3
渡辺株		19	39	25	12	5									1.4
木村株		7	39	41	7	6									1.5
市原株		7	29	37	20	4	3								1.6
永井株		4	26	38	18	9	2	1	0	1					1.8
亀田株			3	14	27	19	12	12	9	3	1				2.7
福永株		1	11	12	31	19	12	4	3	2	1	1	1	1	2.6
W 28株	4	80	16												0.8
W 46株	5	59	35												0.8
W 33株	2	23	53	21	1										1.2
W 11株		15	49	26	14	6									1.5
W 44株		4	46	30	13	7									1.5
W 13株		4	44	36	14	2									1.5
W 29株		6	43	30	13	5	3								1.5
W 43株		7	33	28	17	8	2								1.6
W 19株		8	22	20	18	14	11	5	2						2.2

における長さの平均値はH37RV, BCG, 広島株及び恥垢菌の順序で小さくなっているが、それぞれの菌株の最頻値の度数はこの順序で大きくなっている。この関係は喀痰由来の菌株間にも存在し、平均値の最も小さい大塚株から最大の福永株に到る間の各菌株の最頻値の度数は概してそれぞれの平均値が大きくなるに従って小さくなる傾向を示している。またこれらの菌株では平均値が大きくなるに従い、分布幅が大きくなり最小の大塚株では 1.5μ であるのに対して福永株では 6.5μ を示している。この二つの関係は牛乳由来の菌株にも認められる。

菌の幅は表2に示す様に長さの変化に同調するが大部分の菌株では $0.2-0.6\mu$ の値を示している。

大きさの最小の菌は大塚株において $0.4 \times 0.2\mu$ 、最大の菌は福永株において $19.5 \times 1.1\mu$ のものが認められた。(図 33)

3) 菌の外形

Rosenblatt⁸⁾らは菌の形について桿状、蚕豆状、卵形、などの漠然とした表現を用いているが、著者はこれを菌の長さと幅の変動から考へることが出来ると思う。即ち前述した長さ及び幅の平均値の最頻値の度数と分布幅とに対する関係から考え、平均値の最も小さい大塚株では菌形が均一で、最大の福永株では多様であることが理解される。また平均値 0.8μ の大塚株では菌の彎曲が全く認められず、磯川(0.8μ)、長谷川(1.0μ)、岩井(1.0μ)及び大成株(1.0μ)でも彎曲を示す菌が非常に少いことを考えれば、喀痰由来の菌株では小さい菌株程形が均一で、大きくなるに従い多形性を増し、亀田(2.7μ)福永株(2.6μ)では対照菌株より著しく多形的である。この関係は牛乳由来の菌株にも同様に認められる。菌端の形はすべての菌株において大部分円形であるが、長軸の方向に菌が連つている場合には扁平な

表 2 菌 の 幅

菌 株	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0	1.1 μ	平均値
H37RV	15	35	45	5						0.39
B C G	13	21	65	1						0.35
鳥 型 広 島	17	60	21	2						0.30
恥 垢 菌	19	59	21	1						0.29
大 塚 株	24	60	16							0.29
磯 川 株	18	71	11							0.29
長 谷 川 株	26	37	37							0.31
岩 井 株	7	56	37							0.31
大 成 株	2	56	42							0.34
吉 川 株	5	18	73	4						0.37
渡 辺 株	10	40	35	15						0.35
木 村 株	9	24	67							0.35
市 原 株	8	7	80	5						0.38
永 井 株	1	34	58	7						0.37
亀 田 株	3	25	36	31	5					0.41
福 永 株		8	25	42	16	4	3	1	1	0.50
W 28 株	28	63	9							0.27
W 46 株	24	36	30	9						0.31
W 33 株	25	40	27	8						0.31
W 11 株	22	50	35	3						0.29
W 44 株	13	48	31	8						0.32
W 13 株	16	30	52	2						0.34
W 29 株		62	38							0.33
W 43 株	4	56	30	10						0.34
W 19 株		35	45	10	10					0.39

形のものもあつた。(図4)

4) 電子線透過度

同一菌株内の菌についても異同が認められたが、菌株により異り、概して大きな菌株程透過性が良く、喀痰由来の菌株と較べると牛乳由来の菌株は大略透過性の悪い傾向を示した。

5) 顆粒

すべての菌株において比較的大きく円形であつて境界鮮明な電子線不透過性の顆粒が通常菌の両端近くに存在し、比較的小きく円形の境界鮮明な電子線不透過性の顆粒は菌の各部分に散在するか、集つて存在し、その外に電子線透過性の概して大きな顆粒が認められた。以後前の二者を不透過性顆粒、後者を透過性顆粒と呼ぶこととする。また不透過性顆粒は強い電子線照射により空胞化することが認められた。

6) 不透過性顆粒

各菌株毎に任意に100個の菌について不透過性

顆粒の数の頻度分布を見ると、表3に示すように対照菌株及び喀痰由来の菌株では無顆粒の菌が少なかつたが、牛乳由来の菌株では概して多く特にW11株では91%に及んでいる。また亀田及びW11株を除くすべての菌株では2個の顆粒を有する菌が最も多い。顆粒数の総和は福永、亀田及びW19株が著しく多く、最も少ないものはW11株である。顆粒数の分布型は表1に示した長さの分布型に類似した型を示している。最も多く不透過性顆粒を有する菌は福永株にあつて110個を算した。

不透過性顆粒の大きさを任意に100個の顆粒についてその直径を測定したところ表4に示す様に50 μ 以下の顆粒数は対照菌株ではいずれも40以下であるのに対し、非定型菌株では60以上である。顆粒の大きさの分布型には特別のことは見出すことができなかつた。また各菌株の最大顆粒の直径も菌株により異り、その最大なものは亀田株

表 3 不透過性顆粒の数

菌 株	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30個	総和
H37RV	3	3	34	28	13	9	4	3	4	1																						326
B C G	2	12	54	11	11	0	4	0	0	0	1	1																				272
鳥型広島	3	3	51	27	10	4	2																									258
恥垢菌	3	14	38	9	5																											244
大塚株	1	2	31	12	15	11	7	3	2	6	1	1	3	0	1	1	0	0	0	0	1											454
磯川株	7	22	45	11	6	6	3																									222
長谷川株	5	19	42	20	10	5	2																									242
岩井株	1	13	52	12	6	9	3	1	2																							263
大成株	6	15	48	16	3	5	4	3																								256
吉川株	6	16	37	9	4	8	1	3	0	0	1	1	0	1	1																	221
渡辺株	5	8	39	15	7	8	7	7	1	1	1	1																				340
木村株		6	40	4	7	19	10	5	3	4	0	1	1																			402
市原株		2	37	16	14	11	4	3	2	2	1	1																				379
永井株	3	5	33	5	20	9	7	4	4	4	2	1	1	0	0	1	0	1														424
亀田株	2	0	7	3	0	11	7	6	7	5	10	10	8	4	3	1	2	4	2	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	1		978
福永株			11	3	2	12	2	1	8	7	8	3	1	1	3	2	3	1	2	7	3	1	2	5	1	1	1	1	3	1	*1	1620
W 28 株	33	18	48	1																												117
W 46 株	33	10	50	2	3	2																										138
W 11 株	91	0	72																													22
W 13 株	18	9	38	21	7	2	2	1																								155
W 29 株	13	11	42	15	8	4	1	1	2	1	1	1																				251
W 43 株	8	10	44	23	6	3	2	2	3	1	2	1	2	1	2																	364
W 19 株		7	36	25	4	3	3	2	3	2	1	2	2	1	1	1	2	1	2	1	1	1										503

* 福永株で 30 個以上の顆粒を有する菌の頻度は次に示す如くである。

顆粒数 31 — 40 個	菌 数 6
41 — 50	4
50 — 58	3

表 4 不透過性顆粒の大きさ

菌 株	400							
	50	100	150	200	250	300	350	m μ
H37RV	32	11	5					
B C G	33	29	30					
鳥型広島株	37	29	33					
恥垢菌	34	20	27					
大塚株	84	7	8	1				
磯川株	85	15						
長谷川株	84	12	4					
岩井株	82	8	8	1	1			
大成株	84	14	2					
吉川株	93	7						
渡辺株	80	12	6	1	0	1		
木村株	88	0	1	3	6	2		
市原株	72	8	16	3	1			
永井株	69	10	13	8				
亀田株	84	3	4	2	5	1	0	1
福永株	92	2	3	1	1	1		
W 28 株	68	30	2					
W 46 株	61	37	2					
W 11 株	51	43	5	1				
W 13 株	31	64	5					
W 29 株	43	38	18	1				
W 43 株	66	33	1					
W 19 株	32	45	7	4	3			

において 450 m μ というのが認められた。

7) 透過性顆粒

Lembke, Ruska⁹⁾ は透過性顆粒は境界鮮明で周囲の原形質よりも明るく見えると述べ、Knaysi¹⁰⁾ は高度に透過性であるといっているが、著者は恥垢菌に見られる境界不鮮明で透過性の侵蝕されたような斑点、永井株に見られる周囲の原形質よりもやや不透過性である顆粒、及び岩井株や磯川株に見られる内部の透過性は周囲の原形質の透過性と殆ど変らないが鮮明で不透過性の輪状の境界線で囲まれた部分、(Fig 2, Fig 4) などその形状や配列が良く似ているのでともに透過性顆粒として観察した。この顆粒は小さい菌株では小さく、大きな菌株では大きいようであるが、境界の不鮮明なものが多いので測定は行わなかつた。各菌株毎に任意に 100 個の菌について顆粒数を数えてその和を表 5 に示した。顆粒数は対照菌株では 70 以下であるが非定型抗酸性菌株特に喀痰由来の菌株では大部分が 100 以上であつた。

8) 原形質

表 5 透過性顆粒の数

菌 株	原 株	SM耐性株	INAH耐性株
	H37RV	27	
B C G	16		
鳥型広島株	63		
恥垢菌	31		
大塚株	57		
磯川株	137		
長谷川株	138		
岩井株	128		
大成株	96		
吉川株	150		
渡辺株	125	118	
木村株	141		
市原株	138		
永井株	196	144	145
亀田株	238		
福永株	271	146	186
W 28 株	72		
W 46 株	13	11	
W 11 株	39		
W 13 株	28		
W 29 株	148		
W 43 株	175		
W 19 株	128		

原形質は一般に無構造であるが大成、岩井、長谷川、磯川、大塚、W 13、W 33 及び W 46 株では菌の両端近くに境界不鮮明で不透過性の円形部分をもつ菌、即ち篠原の述べた濃極型とみなされるものが多数認められた。この部分はクロームシャドーにより隆起が認められた。(図 29) 大塚株ではこの部分を中心に放射状に外側へ伸びる繊細な網状又は索状の構造が認められた。(図 34)

9) 分裂形式

Ruska の所謂 Knickungsteilung¹¹⁾ は篠原¹²⁾ 及び小池¹³⁾ の記載する横分裂と同一形式と考えられるが、かかる電子顕微鏡像は殆んどすべての菌株において認められた。就中喀痰由来の大成、岩井、磯川、大塚株など比較的小さい菌株に多く存在した。特に大成株では横分裂直後と考えられる像が見出された。(図 31) この二つの菌は夫々の分裂端に近く存在する不透過性の部分を連結する一本の索状物によりつながり、索状物の長さは約 400 m μ 、幅はその中央部において 30 m μ で両端で急に幅が広くなり原形質の不透過性部分に移行

している。この中央の長さ 170 m μ の部分は特に不透過性で両方の菌の細胞膜から外部に出ているような印象を与える。両方の菌の大きさは略々等しく symmetric な感じを与えるが原形質の状態は一方の菌では分裂端において著しく不透過性であるのに対して、他方の菌では分裂端と他端の原形質の透過性には大差がない。この事実は横分裂後の菌は必ずしも同様の発育過程をたどるものではないことを暗示しているように思われる。また一方の菌の分裂端には直径 210 m μ の不透過性顆粒を 1 個有していたのに対し、他の菌には 50m μ 以下の不透過性顆粒を 3 個認めた。索状物は不透過性顆粒に達しないで原形質に移行していた。Reed¹⁴⁾、篠原¹²⁾ 及び小池¹⁵⁾ が結核菌について報告している分枝は磯川 (図30) 及び吉川株 (図32) にも認められた。

耐性菌

10) 耐性菌の発育の状態

2 週間の培養では SM 10 mg 耐性永井及び W 46 株の発育は原株と較べて大差なく良好であるが、福永及び渡辺株ではかなり発育が悪く、INAH 10 mg 耐性福永株はやや発育不良で永井及び W 46 株ではかなり発育が悪い。特に福永、渡辺及び永井株の耐性株では菌膜の色が消失していずれも灰白色を呈した。SM耐性渡辺株は平等に混濁した。

11) 耐性の長さ、幅及び透過度

各菌株毎に任意に 100 個の菌について長さ、幅を測定した。表 6 に示すようにそれぞれの菌株の値を原株の値表 1、表 2 と比較すると、耐性による変化はそれぞれ菌株により著しく異り、SM耐性株では渡辺株は長く太くなり、永井及び福永株は短く細くなり、W 46 株はやや短く太くなつて

いる。INAH耐性株では永井株は長く太くなり、福永株は著しく短く細くなつている。SM 及び INAH 耐性による変化で各株に共通している点は原株と比較して菌の長さの変動が小さくなり概して均一化されていることである。電子線透過性は一般に悪くなつていた。

12) 耐性菌の顆粒

各菌株毎に任意に 100 個の菌についてその含有する不透過性顆粒を数えた。表 7 に示すように、いずれの菌株も原株と同様に 2 個の顆粒を有する菌が最も多いが、無顆粒の菌の頻度はすべての耐性株において僅かに増加している。顆粒数の総

表 6 耐性菌の長さ、幅

菌株	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5 μ	平均値
SM耐性渡辺株		4	45	47	4			1.6
永井株		10	42	40	6	1		1.4
福永株		1	34	37	20	8		1.7
W 46 株	7	77	16					0.7
INAH耐性永井株		6	24	36	33	10	1	2.0
福永株		11	44	39	6			1.3

菌株	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9 μ	平均値
SM耐性渡辺株		10	47	20	9	4		0.40
永井株	14	50	36					0.32
福永株		17	49	28	6			0.43
W 46 株		2	65	20	7	5	1	0.43
INAH耐性永井株		17	57	21	5	1		0.43
福永株	8	29	33	7	3			0.32

表 7 耐性菌における不透過性顆粒の数

菌株	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15個	総和
SM耐性渡辺株	2	2	60	15	6	5	5	0	1	1							263
永井株	9	3	55	17	12	2	1	1									235
福永株	5	7	48	12	8	7	5	0	1	0	2	1	0	1	0	1	303
W46株	36	15	38	5	3	3											133
INAH耐性永井株	10	4	46	15	12	5	7										258
福永株	9	15	45	9	7	2	0	1									188

和はSM及びINAH耐性株ともすべての菌株において減少を認めたが特に福永株において著明であった。

表8 耐性菌における不透過性顆粒の大きさ

菌 株	300 m μ					
	50	100	150	200	250	300
SM耐性渡辺株	38	30	20	8	3	1
永井株	37	27	22	12	1	1
福永株	40	30	24	4	2	
W46株	56	34	9	0	1	
INAH耐性永井株	54	32	13	0	1	
福永株	55	44	6	3	2	

不透過性顆粒の大きさを各菌株毎に任意に100個の顆粒についてその直径を測つたところ表8に示すように、すべての耐性株は原株と較べて50m μ 以下の顆粒の頻度が小さくなり、50—100m μ のもの、頻度が大きくなっていた。これに関連してSM耐性株では顆粒の直径の平均値は著しく大きくなり、INAH耐性株では稍大きくなっていることが認められた。

透過性顆粒の数を同様に100個の菌について数え合計すると、表5に示す様にいずれの耐性株においても原株に較べて減少を示した。

考 按

研究対象を微細に測定することは電子顕微鏡の主要な任務である。しかし標本作製による菌体の不均一な変形^{15) 16)}、観察及び写真撮影に伴う種々の変形や誤差^{15) 16)}及び測定には不可避な誤差¹⁶⁾などを考慮すると、上記の測定値は菌の有する所謂真値からは甚しく懸け離れたものかもしれないが、従来最良の分解能が0.2 μ といわれる光学顕微鏡により行われたこの種の測定よりも分解能10—30 \AA といわれる電子顕微鏡による計測の方がより有意義なものと考えられる。

Topley, Wilson¹⁷⁾によれば mycobacterium は同一菌株でもS型株は fairly long であり、R型株は rather short であると述べているが、本教室の張によれば小川培地上の各菌株の菌型は表9の如くである。これを表1と比較すると牛乳由来の菌株では概してS型株は長く、R型株は短く、従つてSR変異による変化が考えられるが、

喀痰由来の菌株では寧ろR型を示す菌株の方がS型を示すものよりも長く、SR変異による影響は全くうかがえなかつた。

表9 実験菌株の型

喀痰由来株	S型	大塚, 磯川, 長谷川, 岩井, 大成, 吉川, 渡辺, 市原, 亀田株
	R型	永井, 木村, 福永株
牛乳由来株	S型	W11, W19, W29, W35, W13, W46株
	R型	W11, W28, W33, W38, W44, W46株

次に Henrici¹⁸⁾が E. coli 及び B. megatherium, 篠原¹²⁾が BCG, 及び Brieger¹⁹⁾が鳥型結核菌について行つた実験はいずれも growth phase が菌の大きさに著しい変化を与える事実を示している。本実験では各菌株の発育の状況から推察すると、試料を作製した培養二週目には各菌株は種々の異つた growth phase にあつたものと考えられる。それにもかかわらず、菌の大きい程多形性が著しい事実が認められた。おそらくこのことは growth phase にあまり影響されない、非定型抗酸性菌に一般な傾向と考えられる。

電子線不透過性顆粒について Lembke, Ruska⁹⁾は Granula 及び Microgranula と述べ、Ruska¹¹⁾は Kernequivalent (Nukleoid, Kalyoid) と称し、Knaysi¹⁰⁾は bodies of type A と命名して核であると考え、その小さいものを spherical micelles または rodlike micelles と呼んで別個のものと考え、Mudd²⁰⁾は大顆粒を mitochondria, 小顆粒を enzymatically active granula であると主張し、Glauert²¹⁾は metaphosphate 顆粒と考へ、篠原²²⁾は高密度顆粒と名付けた。著者は電子線を強く照射すると空胞化し、また大顆粒と小顆粒との間に多くの移行型の存在する事実以外に実験の根拠を持たないが、Mudd, Takeya²³⁾の最近の知見に従い顆粒の大小、存在部位による区別をしないで共に同一性質の顆粒と考え、先述した不透過性顆粒の名の下に一括して観察した。表3から理解されるように、各菌株の顆粒の最頻値の度数は長さの平均値が大きくなるに従つて小さくなり、分布幅はこの順序で大きくなる傾向がある。また各菌株の長

さの平均値と不透過性顆粒数の総和との間には比較的良好な相関（相関係数 = 0.8）が成立つ。ここで前述の多形性と顆粒数との関連を考えると、菌の長さの平均値の大きな菌株程従つてまた多形的な菌株程、菌に存在する顆粒数は概して多い。しかしその分布は不均一で変動が大きくなる。このことは牛乳由来の菌株についても同様である。

篠原¹²⁾は不透過性顆粒は増殖の盛な時に最も多く認められたと述べ、また Brieger¹⁹⁾は filamentous proliferation の時期に多数出現すると説いている。また篠原¹²⁾は増殖の盛な時には菌が小さくなるといっているが、Brieger¹⁹⁾は上記の時期では菌の伸長を主張している。このことは興味のある問題なので Mudd²³⁾の方法にその範を求め、各菌株の平均の長さの1 μ 当りの顆粒数を計算した。表10に示すように対照菌株及び牛乳由来の菌株では1—2であるが、喀痰由来の菌株ではいずれも2以上である。Glauert²¹⁾に従えばナイセル染色により光学顕微鏡によつても比較的大きな顆粒は認められるから、1 μ 当りの顆粒数は非定型菌株の鑑別に役立つのではなからうかと憶測するものである。

表 10 平均の長さ 1 μ 当りの顆粒数

H 37 RV			1. 4
B	C	G	1. 2
鳥	型	島	1. 6
恥	垢	菌	1. 7
大	塚	株	5. 6
磯	川	株	2. 7
長	谷	川	2. 4
岩	井	株	2. 6
大	成	株	2. 3
吉	川	株	1. 7
渡	辺	株	2. 4
木	村	株	2. 5
市	原	株	2. 1
永	井	株	2. 3
龜	田	株	3. 6
福	永	株	7. 0
W	46	株	1. 7
W	11	株	0. 1
W	13	株	1. 0
W	43	株	2. 7

Knaysi¹⁰⁾は spherical micelles は bodies of type A への発育過程であると考え、篠原は50

m μ 以下の微細顆粒は発育の条件の悪い時に多く出現すると主張し、Mudd²³⁾は resting cell, を処理することにより大顆粒が分れて小顆粒の生ずる実験を報告している。本実験においては、かかる小顆粒の態度が対照菌株と実験に用いた抗酸性菌株との間において異り、特に喀痰由来の株に多く出現しているのは、恐らく菌株間における培地成分中の無機磷酸塩の利用の態度が異なることを意味するのではないかと思う。

Lembke, Ruska⁹⁾は Vakuolebezirke は Prägranula に相当すると考え、Knaysi¹⁰⁾は bodies of type C を cell sap vacuoles であると述べ、Brieger¹¹⁾は vacuolisation を filamentous proliferation の時期に認め、特に発育に不適当な場合に多く出現すると述べている。篠原¹²⁾は増殖の不活発な培養初期に多く現われると報告している。著者はこの顆粒が対照菌株よりも非定型菌株に多く、発育の比較的良好な非定型菌株には少く、発育の悪い菌株に多いことから、これは恐らく菌株にとつて培地が不適当な場合に多く出現するものではないかと推察するものである。

抗酸性菌に対する薬剤の作用を電子顕微鏡的に研究した報告は多数有るが、そのいずれもが感受性菌を薬剤と接触させて時間的にその形態を追求している。Ruziczka²⁴⁾は SMにより内部構造は不定形とならないが、各内容の境界が不規則となり、旧陳培養における菌のような状態を呈する事を認め、Brieger²⁵⁾は SMにより菌の幅が狭り、内部構造が不明瞭となり、mycerical stage の出現することを述べ、INAH では菌は透過性を失い、塊状と変化するとしている。篠原²⁶⁾らは SM及び INAH の作用により、不透過性顆粒が小さくなり、数を減じ、空胞が増加することを認め、Vishwanathan²⁷⁾及び Gupta²⁸⁾らは SMにより菌は伸長しまた膨大し、透過性を減じると報告している。しかしこれらの場合、観察された像は必ずしも耐性によるものとは考えられない。有馬ら²⁹⁾は形態の観察と平行して、population の分析を行い、SM及び INAH 作用後、比較的短時間に耐性菌が出現し、これと同時に電子顕微鏡像に正常な形態を有する菌が出現し、これがその後 overgrow する事実を報告している。著者の実験による透過性の減少、内部構造の不明瞭化、透過性

及び不透過性顆粒の減少などの事実は前記諸家の実験結果と一致し、また薬物の入っていない培地で発育した菌において上記の変化が見出されることから考えると、これらの変化は耐性による形態学的変化と見做しても宜しいのではなからうか。

Rosenblatt⁸⁾ は人型、牛型及び鳥型結核菌、チモシー菌、レプラ菌、恥垢菌などについて、電子顕微鏡の形態を比較したが差異を見出すことが出来なかつたと述べている。Werner³⁾ は病原性及び非病原性抗酸性菌株について同様のことを観察している。本実験においては対照菌株、喀痰由来及び牛乳由来の菌株の三群について、群間の相違及び群内の傾向などが幾らかは認められたが、個々の菌株の chromogenicity, pathogenicity などと関連する形態学的特徴を見出すことは出来なかつた。

結 論

喀痰由来及び生牛乳由来の非定型抗酸性菌について電子顕微鏡的観察を行った。

1) すべての菌株について電子線不透過性の大顆粒、小顆粒及び電子線透過性顆粒を認めた。

2) すべての菌株について菌の大きさと多形性との間には互に随伴する関係があり、また菌の大きさと電子線不透過性顆粒数との間にも同様の関係が認められた。

3) 牛乳由来の菌株は対照菌株及び喀痰由来の菌株に比較すると、概して無顆粒の菌が多く、また電子線透過性が悪い。

4) 非定型抗酸性菌株には概して対照菌株と比較して、大きな顆粒よりも寧ろ 50 m μ 以下の電子線不透過性顆粒が多く認められた。

5) SM 及び INAH 耐性菌株では菌株及び薬剤に特有な変化は認められず、すべての耐性株について、原株に較べて透過性の減少及び顆粒の減少が認められた。

6) 非定型抗酸性菌株は対照菌株と基本的な形態学的特徴においては選ぶ所がないが、その特徴を示す数値の range は対照菌のそれよりも非常に大きい。しかし形態上から chromogenicity, 及び pathogenicity を鑑別し、または個々の菌株を区別することは不可能である。

稿を終るに当り終始懇切な御指導と御校閲を賜った恩師平野憲正教授に衷心より感謝致します。

なお本論文の要旨は第 12 回日本細菌学会関東支部例会で講演した。

文 献

- 1) von Borries, B. und Ruska, E.: (Darzin, E.: the Bacteriology of Tuberculosis, University of Minesota Press, Mineapolis. 1958, 及び笹川久吾: 電子顕微鏡, 本田書店, 東京 1951, より引用)
- 2) Beaven, P. W. and Bayne-Jones, S.: J. Infect. Dis., **49** 399—419 1931
- 3) Pinner, M.: Am. Rev. Tuberc., **32** 424—439 1935
- 4) Tarshis, M.S. and Frish, A.W.: Am. Rev. Tuberc., **65** 278—288 1952
- 5) Gibson, J.B.: J. Path. Bact., **65** 239—251 1953
- 6) Timpe, A. and Runyon, E.H.: J. Lab. Clin. Med., **44** 202—209 1954
- 7) Pollak, A. and Buhler, V. B.: Am. Rev. Tuberc., **7** 74—87 1955
- 8) Rosenblatt, M.B., Fullam, E.F. and Gessler, A.E.: Am. Rev. Tuberc., **46** 587—599 1942
- 9) Lembke, A. und Ruska, H.: Klin. Wsehr., **19** 217—220 1940
- 10) Knaysi, G., Hillier, J. and Fablicant, C.: J. Bact., **60** 423—447 1950
- 11) Ruska, H., Bringmann, G., Neckel, I., und Schuster, G.: Zschr. wiss. Mikr. **60** 425—447 1952
- 12) 篠原近知・伊藤克己・福土圭計・鈴木淳二: 抗酸性菌研究雑誌 **12** 96—103 1955—1956
- 13) 小池聖淳: 結核研究の進歩 **7** 232—243 1954
- 14) Reed, C.I., Rosenthal, S.B. et Reed, B.P.: Ann. Inst. Pasteur, Par. **75** 505—509 1948
- 15) 笹川久吾: 電子顕微鏡 本田書店 東京 1951
- 16) Fischer, R.B. 東昇訳: 応用電子顕微鏡学 共立出版株式会社 東京 1954
- 17) Topley, K. and Wilson, G. S.: Principles of Bacteriology and Immunity, 3rd Ed. 1946 The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
- 18) Henrici, A.T.: (Stephenson, M. 著田中正三訳: 細菌の代謝, 丸善, 東京, 1955 より引用)
- 19) Brieger, E.M., Cosslet, V. E. and Glauert, A.M.: J. Gen. Microb. **10** 294—303 1954
- 20) Mudd, S., Winterscheid, L. C., Delamater, E.D. and Henderson, H.J.: J. Bact., **62** 459—475 1951
- 21) Glauert, A.M. and Brieger, E.M.: J. Gen.

- Microb., **13** 310—317 1955
- 22) 篠原近知：抗酸菌病研究雑誌 **9** 243—248 1954
- 23) Mudd, S., Takeya, K. and Henderson, H. J. : J. Bact., **72** 767—783, 1956.
- 24) Ruziczka, O. et Orth, E. : Ann. Inst. Pasteur, Par. **82** 334—336 1950
- 25) Brieger, E.M., Cosslet, V.E. and Glauert, A. M. : Nature, **171** 211—212 1953
- 26) 篠原近知・福士圭計：抗酸菌病研究雑誌 **10** 244—248 1955
- 27) Vishwanathan, R., Gupta, K. C., Pande, A., Chopra, I.C. and de Monte, A. J. H. : Am. Rev. Tuberc., **70** 328—334 1954
- 28) Gupta, K.C. and Vishwanathan, R. : Am. Rev. Tuberc., **73** 296—300 1956
- 29) 有馬 純・月居典夫・高橋義夫：結核の研究 **8** 9—18 1957
- 30) Werner, G.H. : (Darzin, E. : The Bacteriology of Tuberculosis, 1958 より引用)

註 写真の中の線分は各 1μ の長さを示す

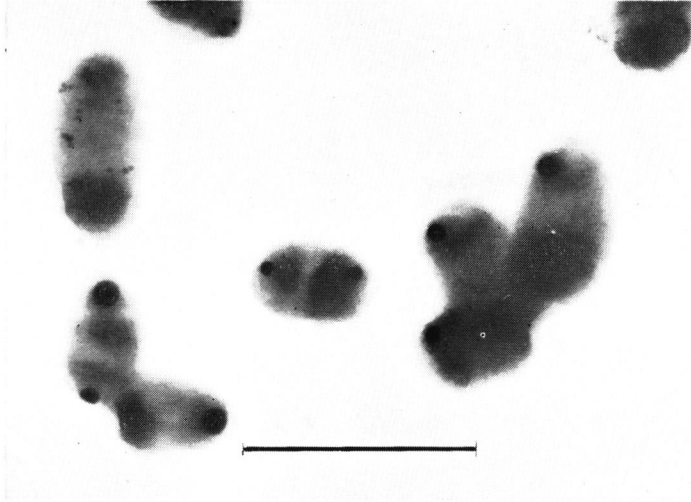


図1 大塚株

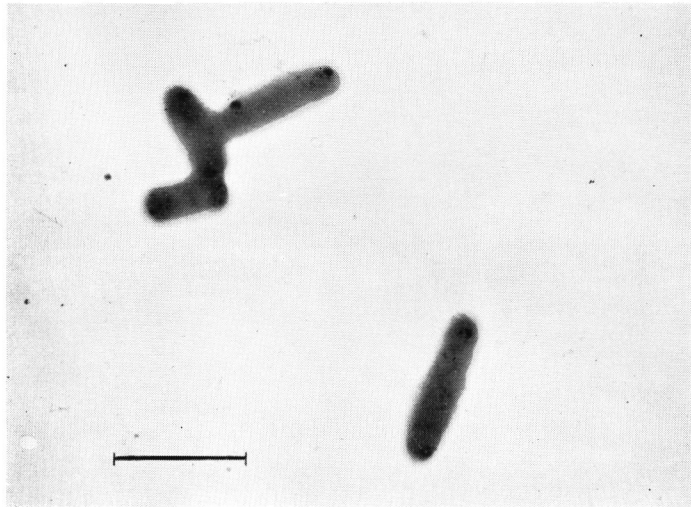


図2 磯川株

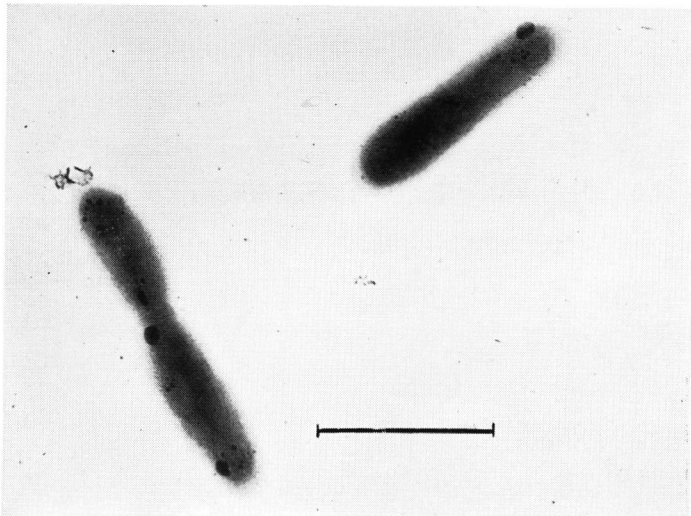


図3 長谷川株



图4 岩井株



图5 大成株

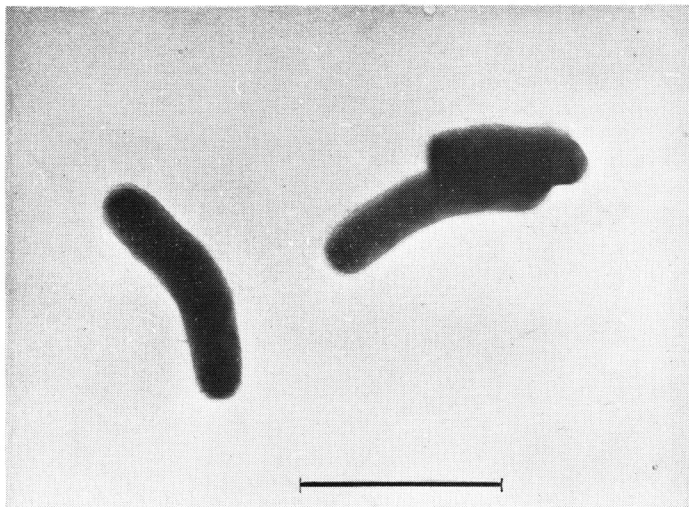


图6 渡辺株



图7 木村株

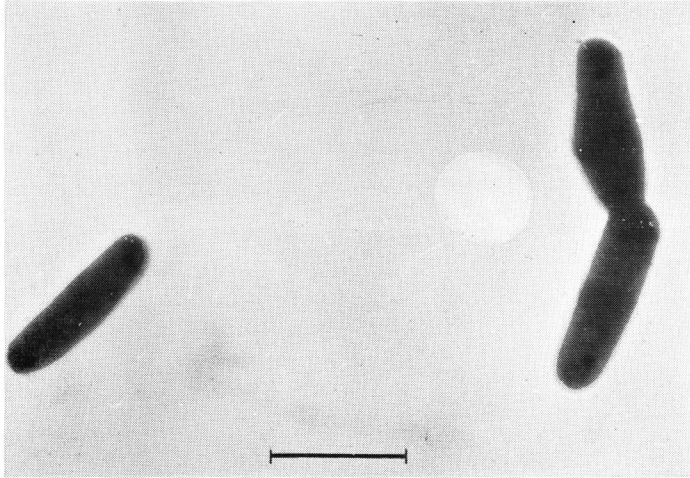


图8 市原株

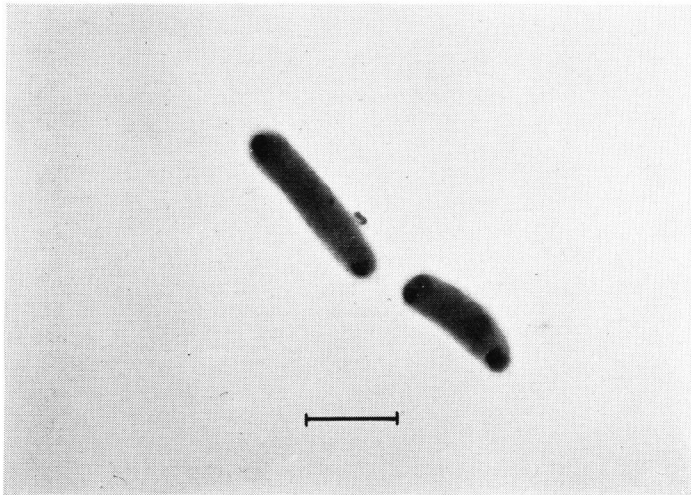


图9 永井株

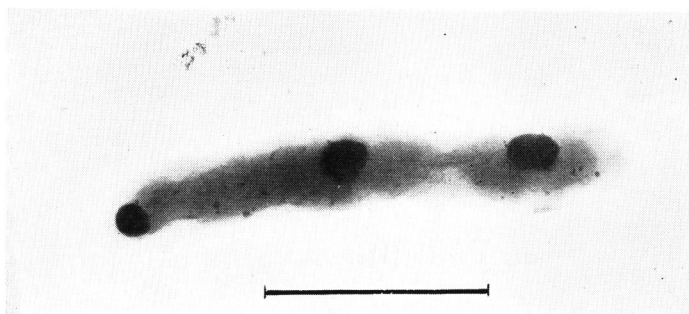


图 10 龜 田 株

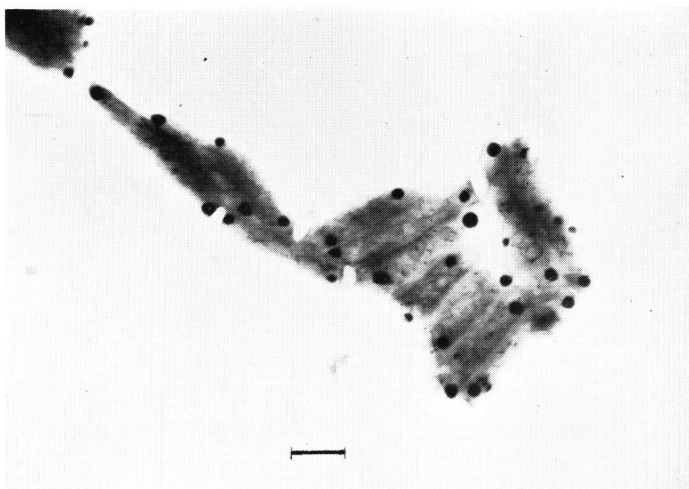


图 11 福 永 株

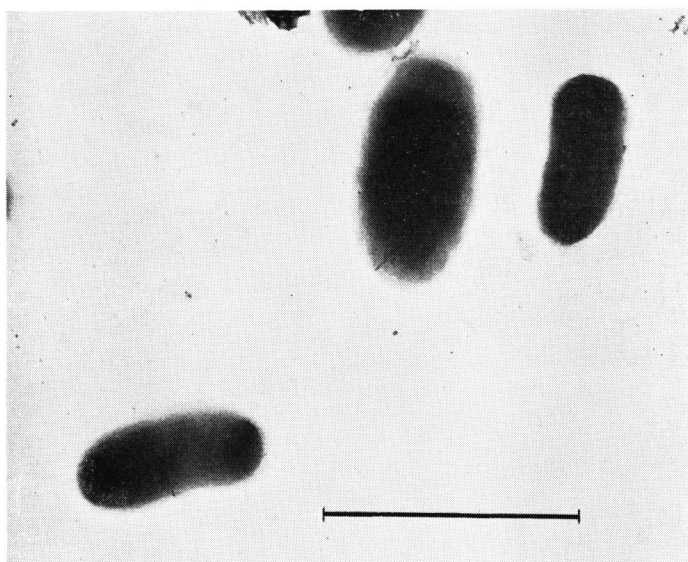


图 12 W₁₁株

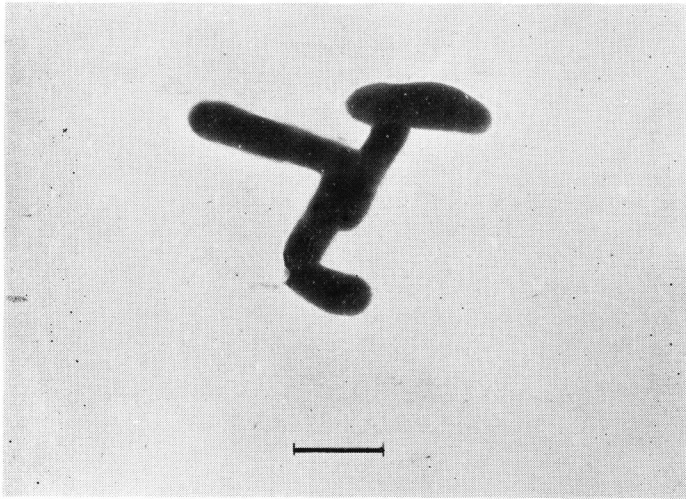


图 13 W 13 株

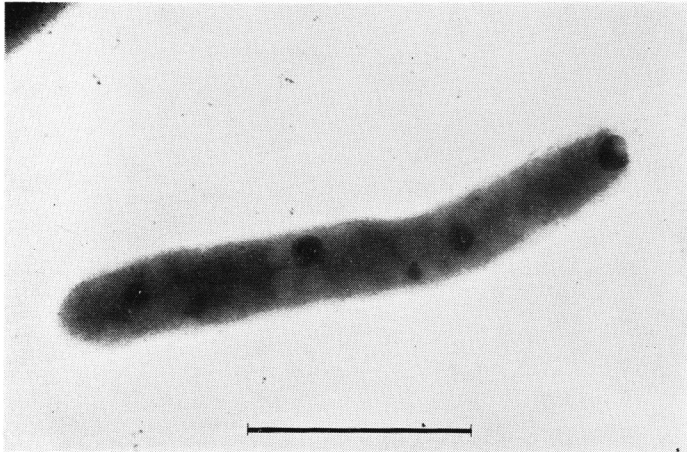


图 14 W 19 株

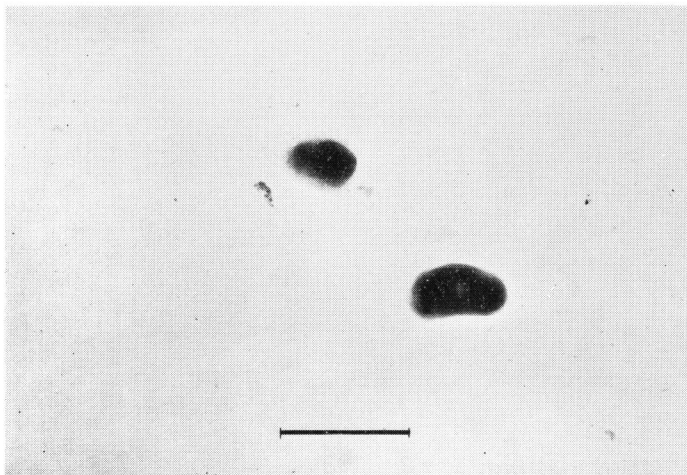


图 15 W 28 株

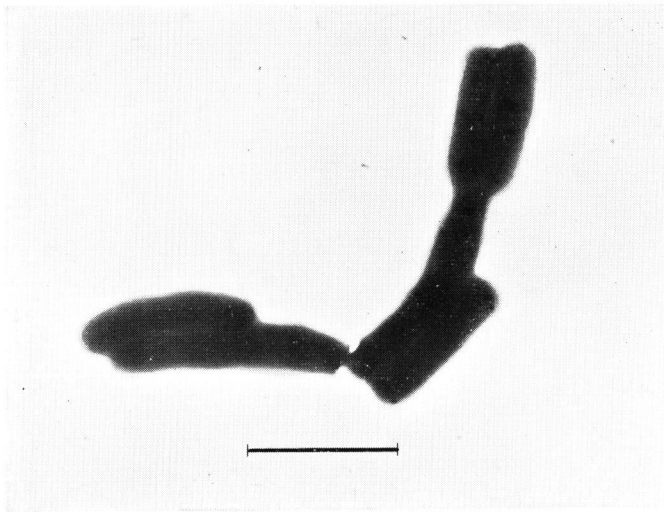


图 16 W 29 株

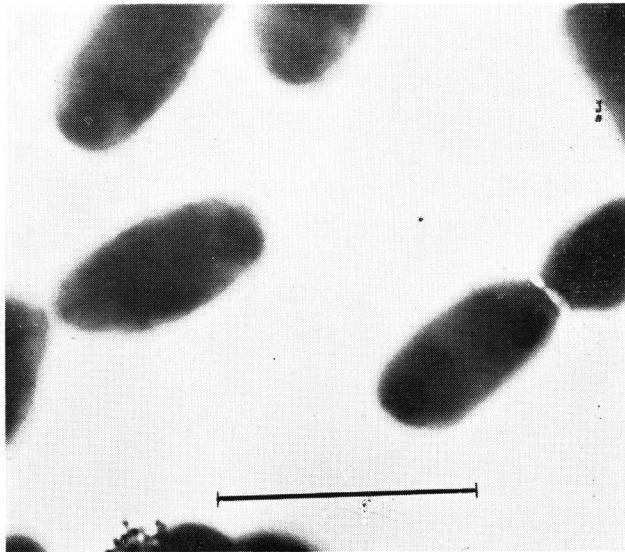


图 17 W 33 株



图 18 W 35 株

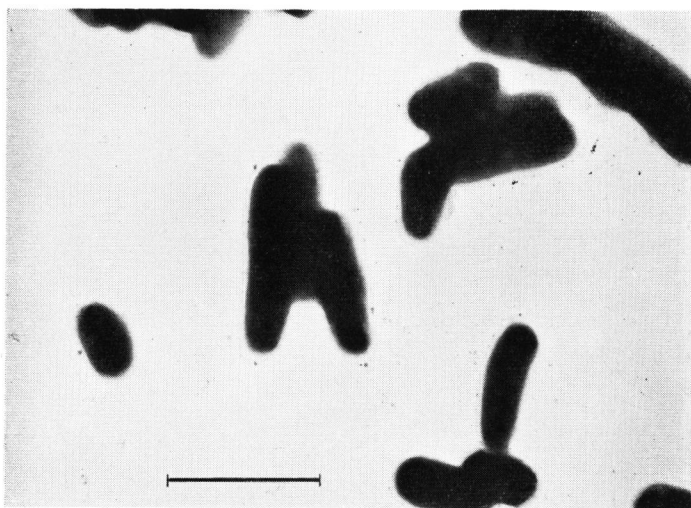


图 19 W 28 株

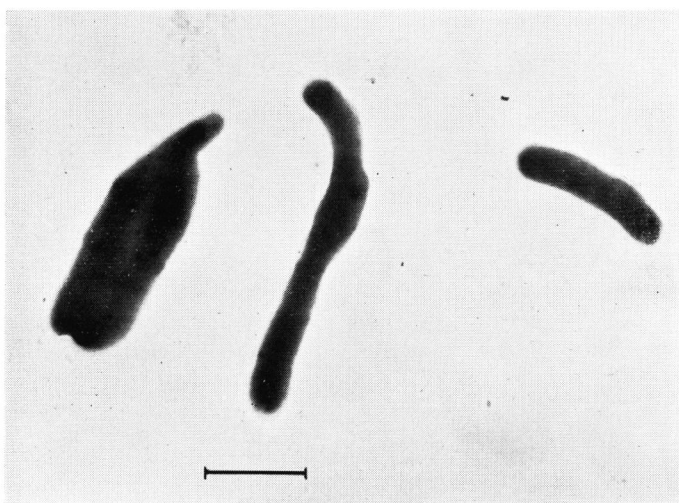


图 20 W 43 株

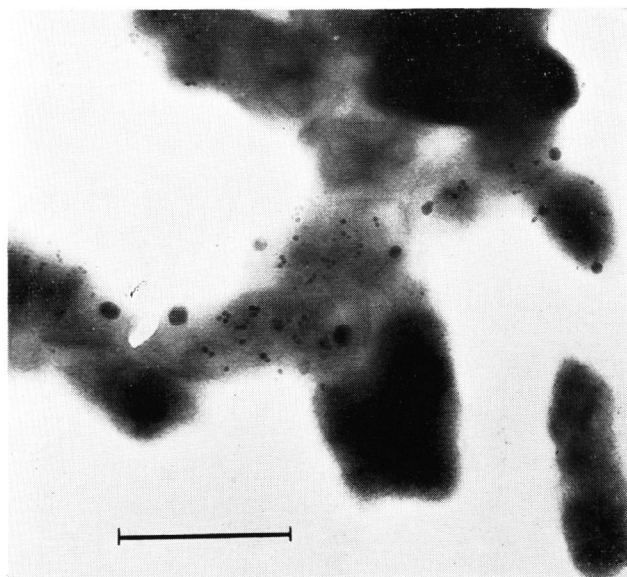


图 21 W 44 株

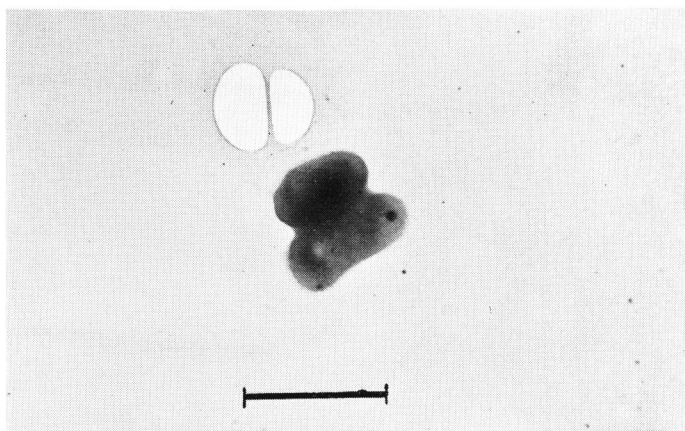


图 22 W 46 株

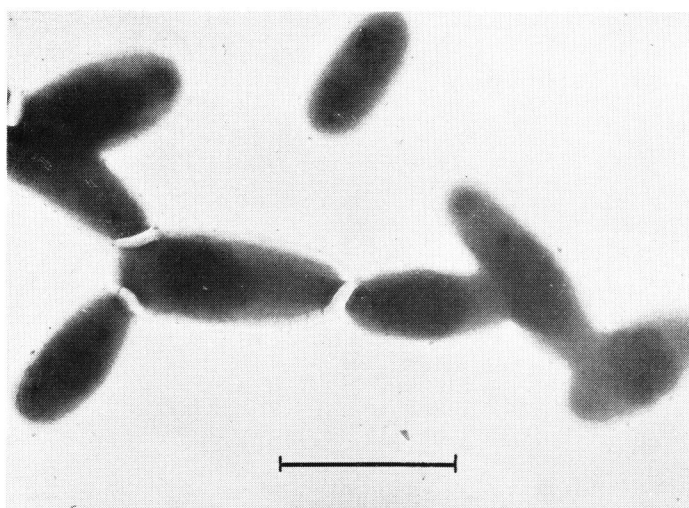


图 23 SM 耐性 渡辺株

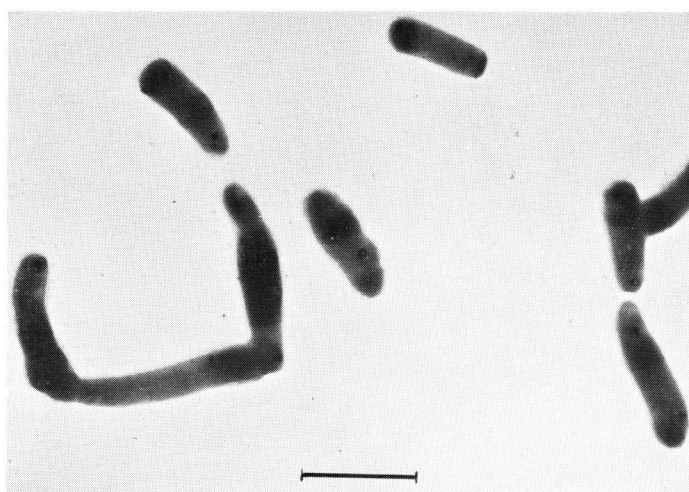


图 24 SM 耐性 永井株



图 25 SM 耐性 福永株

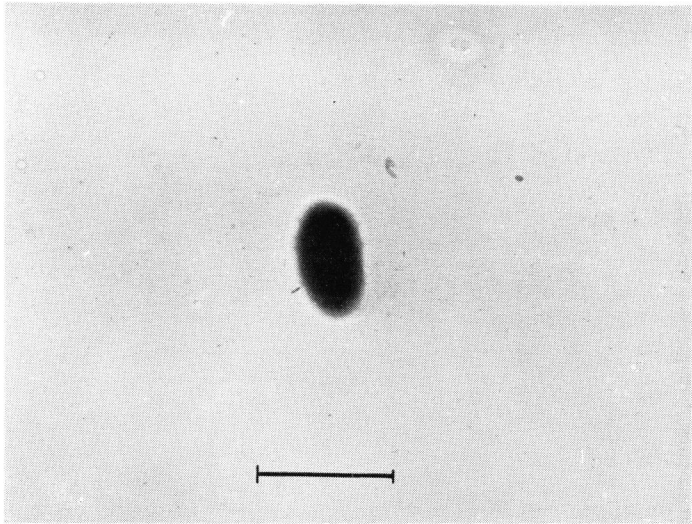


图 26 SM 耐性 W 46 株

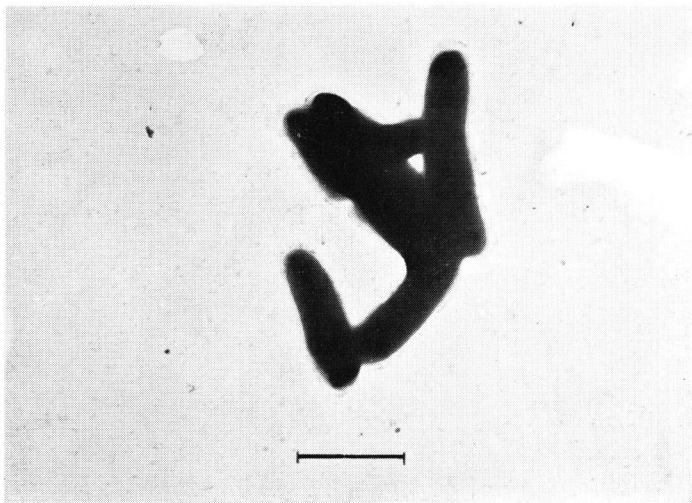


图 27 INAH 耐性 永井株

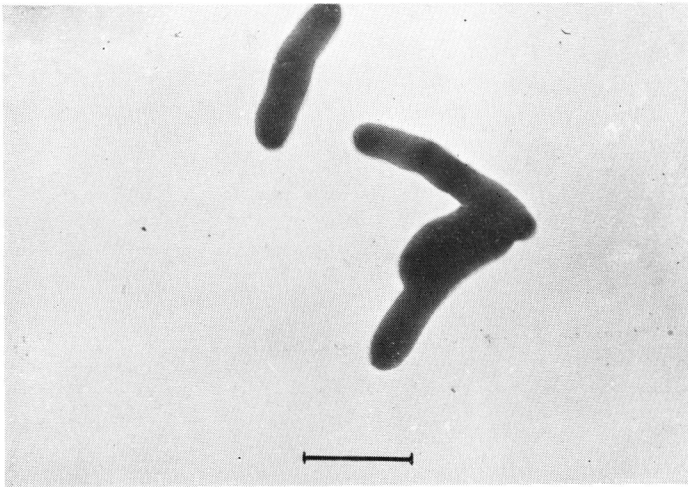


図 28 INAH 耐性 福永株

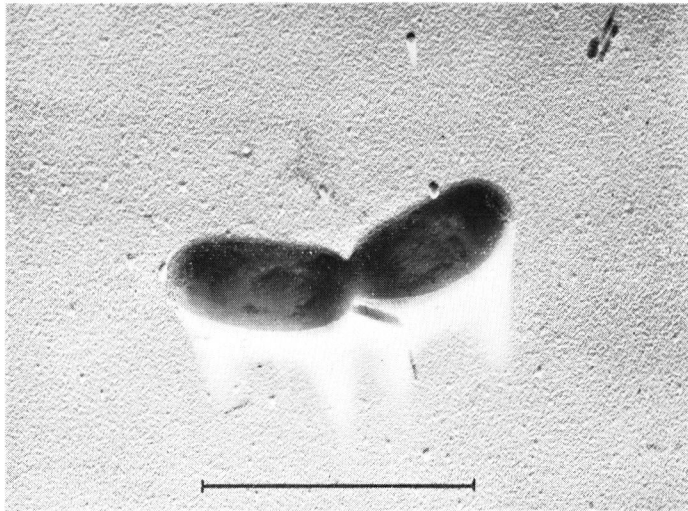


図 29 長谷川株 クロム・シメドーを施したもの

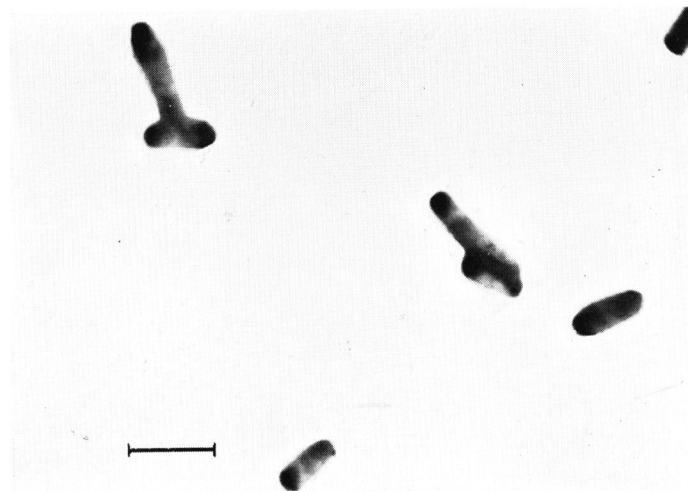


図 30 磯川株 分枝

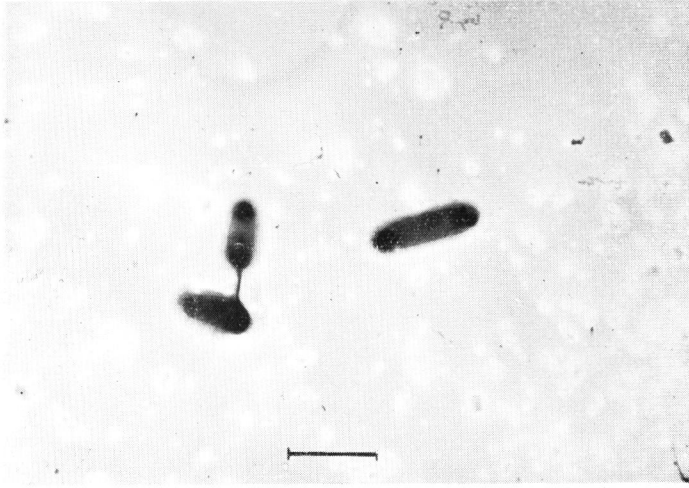


图 31 大成株 横分裂



图 32 吉川株 分枝

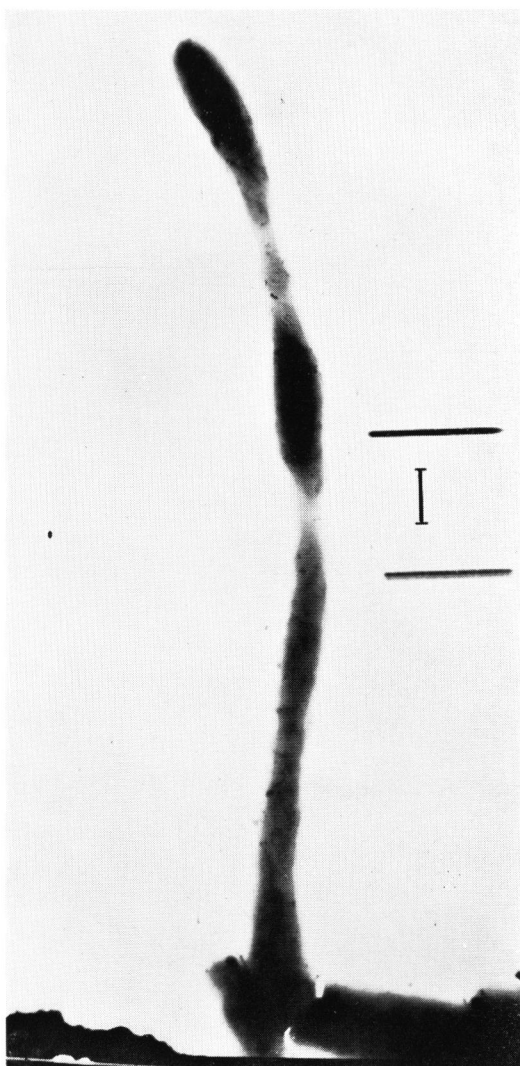


図 33 福永株 長大な菌

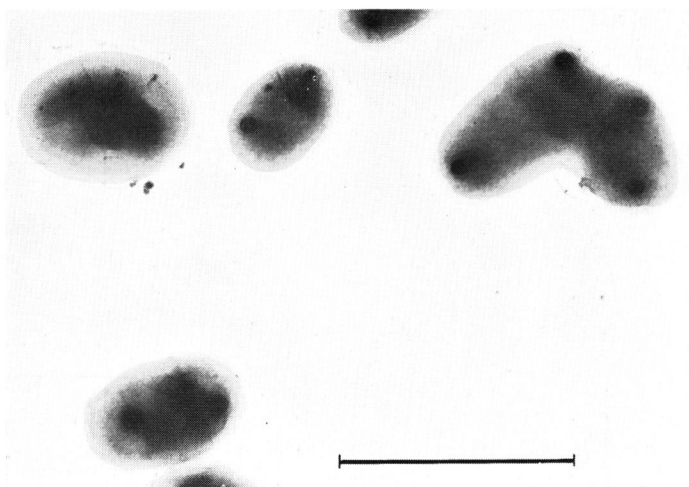


図 34 大塚株 微細な網様又は索状構造