

四連球菌の性状に関する研究

第五報 菌交代症の再現に就いて

昭和35年1月30日受付

信州大学医学部細菌学教室(指導:田崎忠勝教授)

国立松本病院(院長:山口清治博士)

本田 菊 王

The Properties of Gaffkya Tetragena

Report. 5. Bacterial alternation phenomenon produced by the artificial infection of Gaffkya tetragena.

Kikuo Honda

Department of Bacteriology, Faculty of Medicine, Shinshu University.

(Director: Prof. T. Tazaki)

Matsumoto National Hospital

(Chief, Dr. S. Yamaguchi)

緒 言

四連球菌に依る処の敗血症は稀であるが、1936年、Reimann^①~^⑥は、本症の血液から四連球菌を発見、本菌株を系統的に研究し、本邦では、1913年、Yamakawa^⑦の報告以来、Tokikuni & Tominaga^⑧、内藤^⑨、北原及び田淵等^⑩の症例報告が見られる。

私の供試した菌株も敗血症由来のものである^⑪。併しその発症機序は、もとより明らかでない。

本問題に関連して、本菌株に依る菌交代症の再現を試み、次の様な知見を得たので報告する。

実験方法及び実験結果

(一) 実験材料

(i) 四連球菌竹村株のペニシリン耐性株、及びペニシリン・ストレプトマイシンの耐性株

(ii) d, d, N 系マウス(体重, 20g)

(二) 実験方法

肺炎双球菌Ⅲ型、竹村株、抗生物質とを種々な組合せに於いてマウスに接種した。

(A) 肺炎双球菌、ペニシリン、竹村株の場合、(以下 Pn. P. T. (I) 群と略す)

① 肺炎双球菌 1.0mg マウス腹腔内接種。

② 4時間後、ペニシリン Sol (明治製薬) 3,000u. をマウス臀部に筋肉内注射。

③ 3時間の後、竹村ペニシリン耐性株 1.0mg をマウス腹腔内接種。

④ 以後3乃至4日間隔に1回、同単位のペニシリン Sol を筋肉内注射。

翌日から10日間に亘つて、毎日一定数のマウスに対して、フェノバルビタールに依る麻酔後、直ちに頸部

を切断し、臓器中の血液を放出せしめた後、剖検し、各臓器の病理学的所見を検する手段を行う一方、各マウスの心血一滴中、及び各臓器 10mg 中の竹村耐性菌の消長を菌数計算によつて検討した。尚、菌数計算に当つては、血液及び各臓器エムルジョンの倍数稀釈液の各々を、普通寒天平板 2~3 枚づつに塗抹培養し、出現する集落数の平均値を求めて表示した。

(B) Pn. P. T. (II) 群

Aに準じて行い、14日間観察した。

(C) Pn. P. T. (III) 群

(A)・(B)の中、肺炎双球菌を 55°C、20分で死菌としたもの、処置法は(A)に準ずる。

(D) M・T・群

マイシリン(武田製薬:ストレプトマイシン 5mg 力価、ペニシリン 4,000 u) を連日3日間、マウス臀部に筋肉内注射し、最終注射日の翌日、竹村耐性株 1.0mg を腹腔内に接種した。

(E) P・T・群

① ペニシリン Sol 3,000u. 筋肉内注射、

② 3時間後、竹村株 1.0mg を腹腔内接種した。

(F) T・群:竹村株 1.0mg を腹腔内接種した。

(G) Pn. P. 群:肺炎双球菌接種4時間後、ペニシリン筋肉注射を行つた。

(H) Pn 群:肺炎双球菌 1.0mg を腹腔内接種

(I) 無処置マウス:尚(B)~(I)に於ける処置マウスの中菌数計算を必要としたものは、すべて(A)の項に記載したと同様な方法で行つた。

実験結果:

(一) 病理組織学的所見

対照群には特記すべき変化を認めず、実験群の中、

主要な病理組織学的変化は次の通りであつた。

Pn. P. 群:

肺臓(図1); 一胞隔には充血があり, 少数の好中球・リンパ球及び好酸球が浸潤して軽度に肥厚し, 所謂胞隔炎の像を認める。然し10日例においては胞隔炎は殆んどみられない。また同様の炎性細胞浸潤が気管支周囲にみられたり, 肺胞に軽度の出血を認める例もあるが, 胞内炎は殆んどみられない。

脾臓(図2); 一赤脾髄に充血と細網細胞増殖及び少数の好中球, リンパ球, 単核球の浸潤した脾炎の像を軽度に認め, また洞内皮細胞の腫大・増殖がみられる例もある。3~5日例の脾では濾胞増殖は著明である。

肝臓(図3, 4); 一肝細胞は腫大し, 脂肪一蛋白質変性が認められる。殊に5~6日例において著しく, また7~8, 10日例においては限局性に肝細胞原形質がびまん性に濃染して, 細胞境界は不明瞭となり, 核の変性も著しい Nekrobiose 及び壊死の像を認めたり, また淡明化した肝細胞の小集団が, 少数のリンパ球浸潤を伴なつて限局性の網状円形病巣を作っているところがある。類洞には充血があり, 白血球が少々増加している例もある。また星細胞の腫大, 増加は中等度に認められる。尚, Glisson 鞘の血管周囲にリンパ球・単核球の集積性浸潤が著明な例がある。

腎臓(図5); 糸球体の Mesangium 増加が軽度に認められ, 間質には鬱血と少数のリンパ球浸潤が限局性にみられる例がある。

Pn. P. T. (II) 群:

肺炎双球菌。生菌注射群においては, Pn. P. 群における変化と略々全様である。但し2日例の脾臓においては赤脾髄の組織融解が強くおこつていたが, 11日例の肝臓においては星細胞の腫大, 増加やリンパ球浸潤を認めていない。

肺炎双球菌の死菌注射群においては, その炎性変化は Pn. P. 群に比較して極めて軽微である。即ち肺臓(図6)の胞隔の充血や胞隔炎を殆ど認めず, 肺胞は含気性に富み, 気管支周囲にも著変を認めない。脾臓(図7)においては鬱血と軽度の細網細胞増殖をみた例がある。また肝臓(図8)は, 少数の肝細胞の変性巢の他は炎性細胞浸潤を認めなかつた。

(二) 血液及び臓器中の四連球菌(竹村株)の消長

対照群及び実験群の血液及び臓器内に於ける菌の消長を日数別に観察すると(図9~図14)に示される如くである。尚, 正常気管, 気管支等は殆んど無菌的と云われているが, 本実験でも実験に支障を来す様な

事はなかつた。

これ等の菌の消長に就いて対照T群と比較した場合。

① Pn. P. T. (I) 群では, 肺, 肝, 脾, 腎の全供試臓器中の菌数に増多が認められた(第1表)。

② 併し, 同様の処置を施行した処の, Pn. P. T. (II) 群では血液及び肺臓内に於いてのみ差異を示した(第2表)。

③ Pn. P. T. (III) 群では顕著な差異を認めなかつた。

④ P. T. 群には特に差は認められなかつた。

⑤ M. T. 群では肺, 肝, 腎臓に増多が認められた(第3表)。

⑥ 以上の結果から, マイシリンに依る前処置群は, 対照の非前処置群に比較して, 血液及び各臓器中の菌の消長に或る程度の差異を示す事が確認され, 四連球菌の血中或いは, 臓器内での比較的増多の一因は前処置として行つた抗生物質の投与にあつたと推定される。併し一方, 臓器内増殖の他の要因として, 上記の結果から肺炎双球菌の感染に依る組織の炎症性変化も関与する事が考えられたので, M. T. 群と Pn. P. T. II 群間の差異の有無を検討し, 第4表の様に Pn. P. T. (II) 群は, M. T. 群に比較して, 特に血液中の四連球菌の増殖度に差を認める様な結果を得た。

総括

菌交代症は Brisou^①, Weinstein^②等に依つて記載され, その後多くの研究報告があるが, その発症条件として主なるものは, 菌叢の変化, 個体の感染防禦能を低下させる様な物理化学的要因等と云われている。

① Rosebury^③は口腔内の或る種の菌は, これらを純培養したもの単独又は混合したものをモルモットに接種しても実験的感染を起させ得ないが口腔内菌を純培養せず, 混在したまままで培養した場合はモルモットを感染させ得ると述べ, Dearing & Heilman^④は, ストレプトマイシン, サルファ剤, クロルテトラサイクリン等を比較使用し, クロルテトラサイクリンが著明に腸内菌叢の変化を来たした事を報告し, Bierman & Jawetz^⑤はクロラムフェニコールを用いて同様な結果を報告している。

私はこれら菌交代症の要因を考え, 主として菌叢の変化を目的として, マウスに比較的少量の抗生物質を注射した場合(M. T. 群の場合), 主として, 病理組織学的変化並びに混合感染を目的として, 肺炎双球菌を接種し, 比較的少量のペニシリンで治療した場合(Pn. P. T. (I), (II) 群の場合)等によつて菌交代症の再現を計つた。

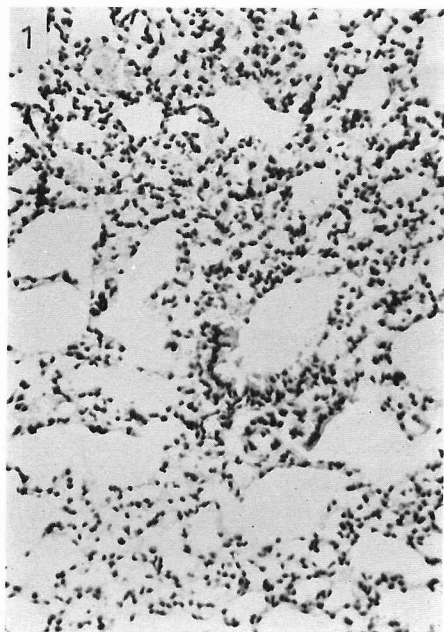


図 1：肺 (Pn.P. 群 6 日後)：胞隔に充血と、リンパ球好中球浸潤があり，胞隔炎の像を示し，胞隔肥厚がみられる。胞内炎を認めない。

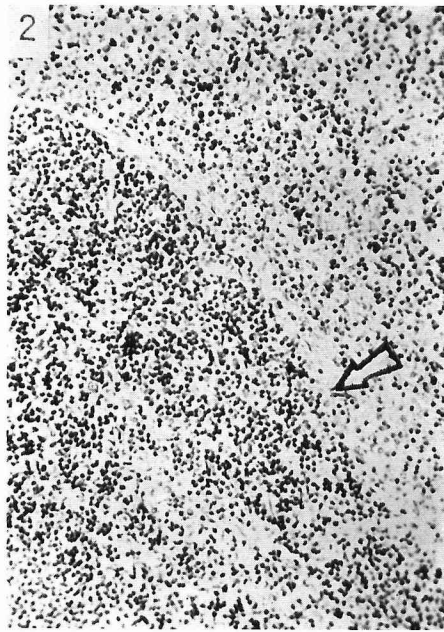


図 2：脾 (Pn.P. 群 5 日後)：赤脾髄嚮血と，少数のリンパ球好中球が浸潤した軽度の脾炎像。濾胞の増殖が認められる (矢印)。

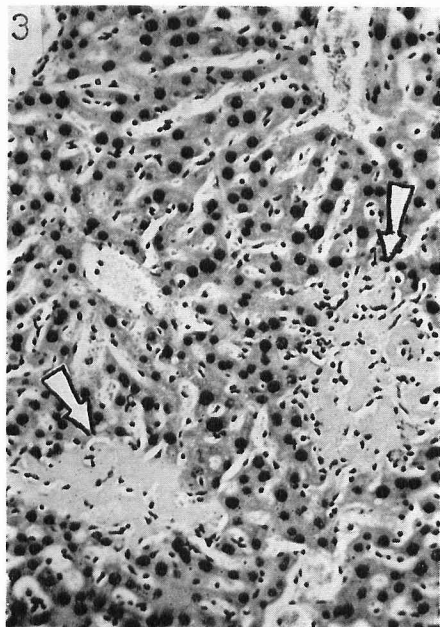


図 3：肝 (Pn.P. 群 7 日後)：中心静脈の嚮血と，星細胞の腫大増殖を認む。限局性の小葉内壊死巣 (矢印) を散見する。

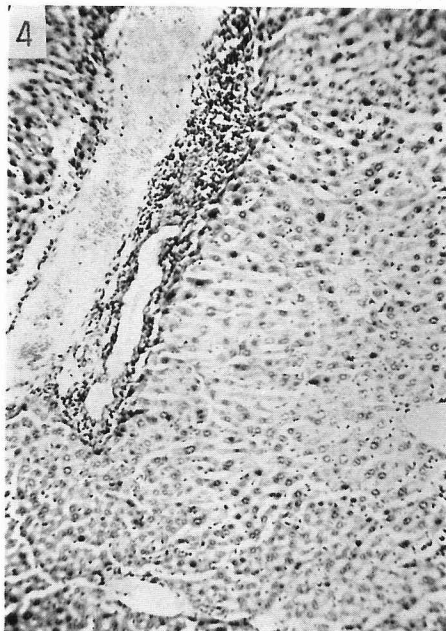


図 4：肝 (Pn.P. 群 9 日後)：肝細胞は軽度の変性に陥り，間質の静脈周囲にリンパ球浸潤が集簇性に認められる。

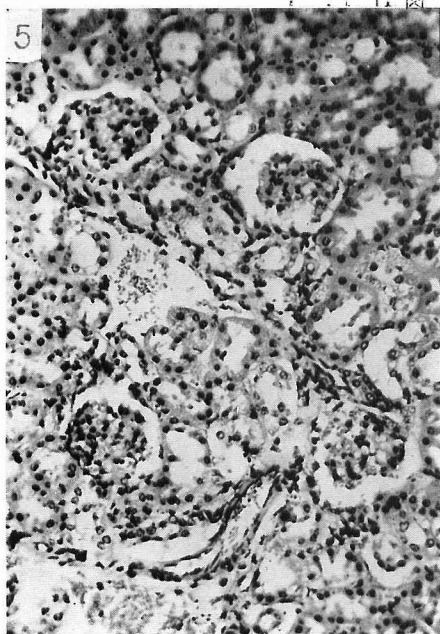


図 5: 腎 (Pn.P. 群 6 日後): 糸球体 Mesangium の軽度の増殖と間質に鬱血をみる。細胞浸潤は認められない。

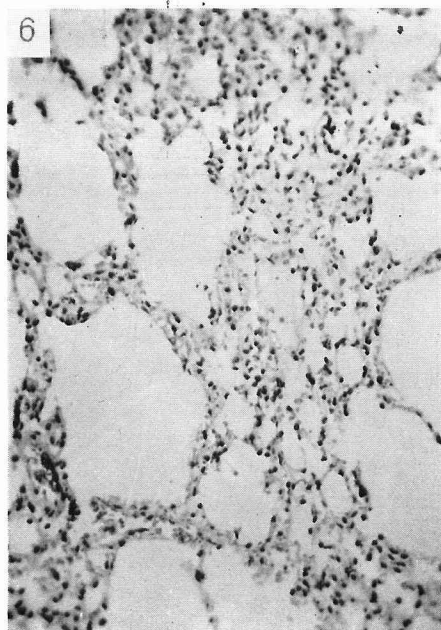


図 6: 肺 (Pn.P.T. (II) 群 12 日後): 肺胞は軽度の大小不同を示すが細胞浸潤はない。胞隔には肥厚と鬱血細胞浸潤を認める。

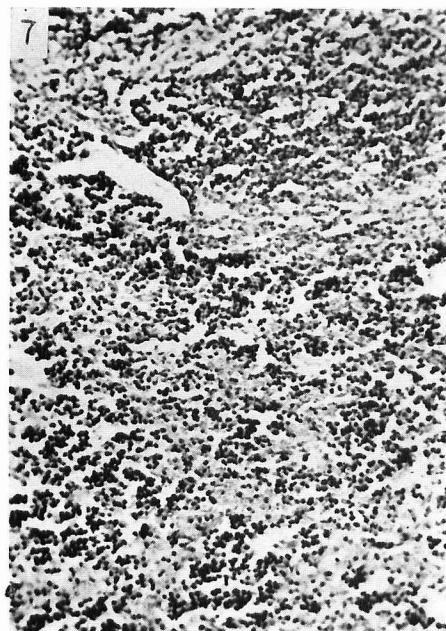


図 7: 脾 (Pn.P.T. (II) 群 4 日後): 赤脾髄の充血と軽度の細胞浸潤, 細網細胞の増殖を伴なう。

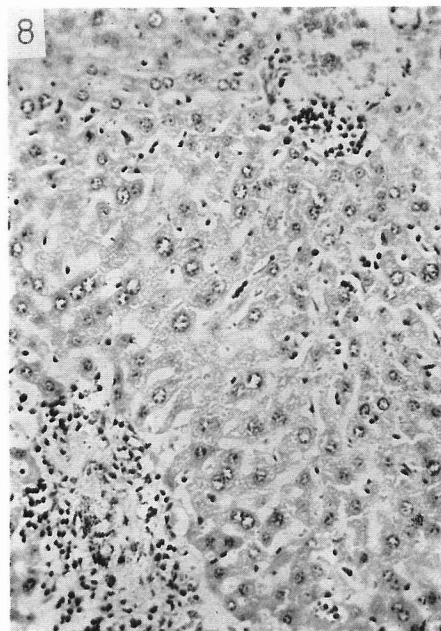


図 8: 肝 (Pn.P.T. (II) 群 5 日後): 肝細胞に脂肪-蛋白質変性と, 小葉内及び間質血管周囲にリンパ球の集簇性浸潤を認む。

图 9. T 群

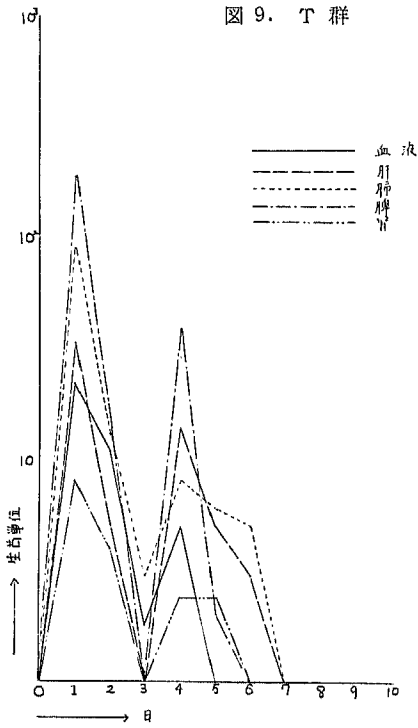


图 11. Pn.P.T. (I) 群

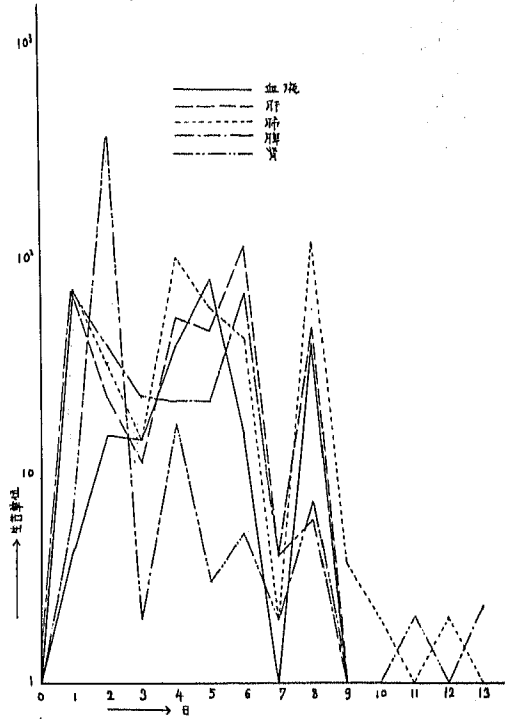


图 10. Pn.P.T. (I) 群

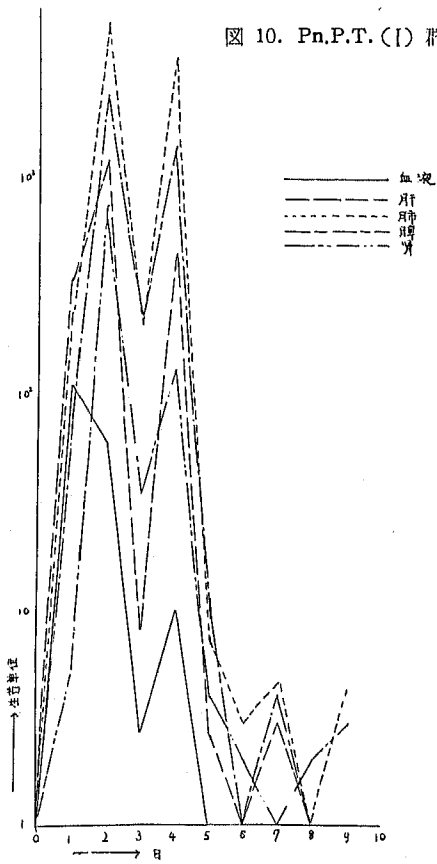


图 12. Pn.P.T. (II) 群

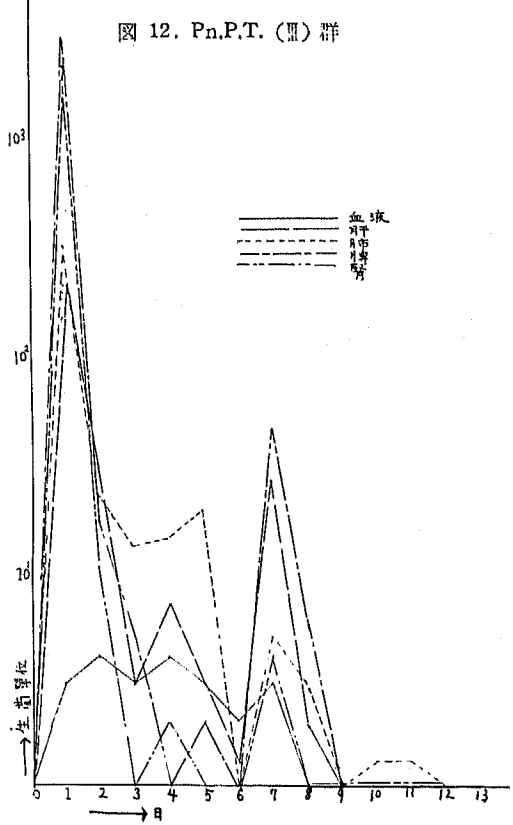


図 13. PT 群

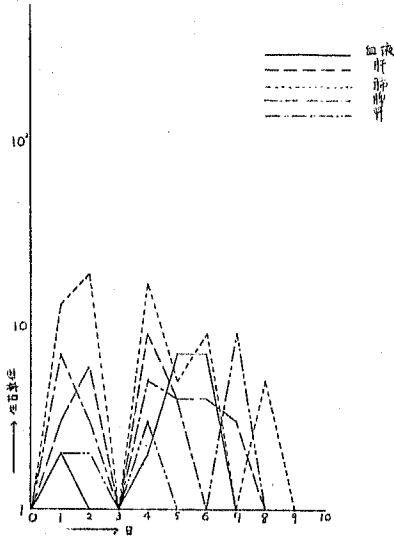
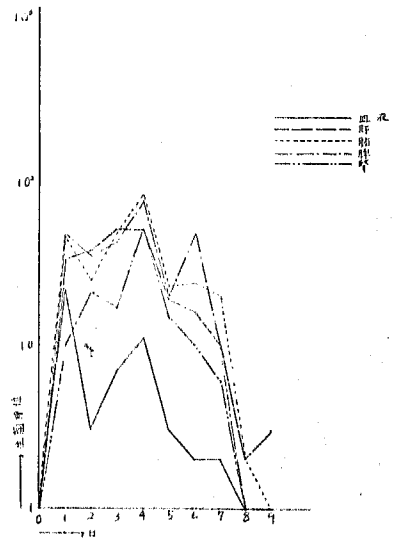


図 14. MT 群



第 1 表

Pn. P. T. (I) - T

血	要 因	S. S.	D. F.	M. S.	F ₀
	V	4500.90	2-1=1	4500.90	29.75 **
D	36263.81	9-1=8	4532.96	29.962 **	
V×D	11882.93	(2-1)(9-1)=8	1485.36	9.751 **	
B (VD)	5446.67	2×9(3-1)=36	151.29		
VDB	48094.31	54-1=53			
肺	要 因	S. S.	D. F.	M. S.	F ₀
	V	14688047.57	2-1=1	14688047.57	8.09 **
	D	47488605.23	9-1=8	5936675.65	3.27 **
	V×D	10732632.13	(2-1)(9-1)=8	1317165579.00	7.55 **
	B (VD)	65306920.40	2×9(3-1)=36	1814081.12	
VDB	175039552.53	54-1=53			
肝	要 因	S. S.	D. F.	M. S.	F ₀
	V	672903.41	2-1=1	672903.41	19.481 **
	D	2103711.65	9-1=8	262963.95	7.611 **
	V×D	2039556.43	(2-1)(9-1)=8	254944.55	7.384 **
	B (VD)	1243291.00	2×9(3-1)=36	34535.86	
VDB	6059462.49	54-1=53			
脾	要 因	S. S.	D. F.	M. S.	F ₀
	V	2556277.79	2-1=1	2556277.79	4.071 *
	D	9019032.37	9-1=8	1127504.04	1.716
	V×D	9382902.04	(2-1)(9-1)=8	1172862.75	1.868
	B (VD)	22602162.34	2×9(3-1)=36	62783.84	
VDB	43560374.54	54-1=53			
腎	要 因	S. S.	D. F.	M. S.	F ₀
	V	132016.67	2-1=1	132016.67	9.135 **
	D	730772.04	9-1=8	91346.50	6.321 **
	V×D	714621.00	(2-1)(9-1)=8	89327.62	6.18 **
	B (VD)	520223.05	2×9(3-1)=36	14450.64	
VDB	2256612.38	54-1=53			

註 Pn. P. T. (I)-T. は両者の比較を示す * 5%以下の危険率を示す

** 1%

//

第2表

Pn. P. T. (I) - T

血	要因	S. S.	D. F.	M. S.	F ₀
	V	10875.41	2-1=1	10875.41	10.002 **
D	11103.13	9-1=8	1387.89	1.048	
V×D	12445.42	(2-1)(9-1)=8	1555.67	1.431	
液	B (VD)	39183.34	2×9(3-1)=36	1086.62	
	VDB	73607.30	54-1=53		
肺	要因	S. S.	D. F.	M. S.	F ₀
	V	19924.61	2-1=1	19924.61	49.811 **
D	23573.60	9-1=8	2941.80	7.354 **	
V×D	43060.22	(2-1)(9-1)=8	5382.52	13.445 **	
B (VD)	14413.67	2×9(3-1)=36	400.37		
VDB	10100.21	54-1=53			
肝	要因	S. S.	D. F.	M. S.	F ₀
	V	13097.81	2-1=1	13097.80	3.241
D	17154.59	9-1=8	2444.32	5.312	
V×D	13224.37	(2-1)(9-1)=8	1653.04	4.091	
B (VD)	14530.68	2×9(3-1)=36	403.63		
VDB	58007.43	54-1=53			
脾	要因	S. S.	D. F.	M. S.	F ₀
	V	15201.07	2-1=1	15201.07	1.309
D	148179.74	9-1=8	18672.46	1.608	
V×D	128773.26	(2-1)(9-1)=8	16096.65	1.386	
B (VD)	417829.67	2×9(3-1)=36	11606.37		
VDB	709983.74	54-1=53			
腎	要因	S. S.	D. F.	M. S.	F ₀
	V	374000.67	2-1=1	374000.67	1.616
D	1729707.00	9-1=8	216213.38	0.934	
V×D	1722393.66	(2-1)(9-1)=8	215299.21	0.930	
B (VD)	8330154.67	2×9(3-1)=36	231393.19		
VDB	12156256.00	54-1=53			

病理組織学的所見では Pn. P. 群では、肺に於いて、初期胞隔炎の像を認め、末期には消失する軽い炎症性変化が見られたが、これらは肺炎像が消失しつつある所見であり又、肝に於いては類洞並びに星細胞に病理組織学的変化が見られた。

此の事は Pn. P. T. (I) 群に於いても同様であり、臓器中の四連球菌の消長から考えてもこの事は理解される。さて実験結果では、実験群は対照群Tと比較して、各被検臓器中の四連球菌の数に於いて或る程度の差異を認めた。此の原因が、主として軽度の炎症性変化の随伴現象として現われるのか、或いは抗生物

質の投与に依つて現われるかを考察するに、上述の如く本実験では対照群と比較して、すべての実験群に於いて或る程度の差異を認めた。

又 Pn. P. T. (II) 群と M. T. 群とを比較すると、血中に於ける四連球菌の増殖度に差を認めた。この事は Pn. P. T. (I) 群と M. T. 群とを比較すれば更に顕著な差が認められた事と考える。

以上の結果からマウス体内に於ける竹村株の増殖度の変化は、抗生物質の投与にも関係するが、更にこれに加えて組織の炎症性変化、混合感染等も重要な因子である事が推定される。P. T. 群と T 群の間には顕著

第3表

M. T. - T.

	要 因	S. S.	D. F.	M. S.	F ₀
血 液	V	6.28	2-1=1	6.28	0.257
	D	2386.15	9-1=8	298.26	12.235 **
	V×D	216.89	(2-1)(9-1)=8	27.11	1.111
	B (VD)	1238.00	2×9(3-1)=36	24.38	
	VDB	3847.32	54-1=53		
肺	要 因	S. S.	D. F.	M. S.	F ₀
	V	3488.07	2-1=1	3488.07	13.896 **
	D	23800.43	9-1=8	2975.05	11.685 **
	V×D	13085.76	(2-1)(9-1)=8	1635.72	6.423 **
	B (VD)	9168.67	2×9(3-1)=36	254.68	
VDB	49542.93	54-1=53			
肝	要 因	S. S.	D. F.	M. S.	F ₀
	V	4231.19	2-1=1	4231.19	23.753 **
	D	7913.38	9-1=8	926.67	5.191 **
	V×D	3773.14	(2-1)(9-1)=8	471.64	2.642 *
	B (VD)	6426.67	2×9(3-1)=36	178.51	
VDB	22344.38	54-1=53			
脾	要 因	S. S.	D. F.	M. S.	F ₀
	V	220.02	2-1=1	220.02	0.573
	D	6718.82	9-1=8	839.85	2.189 *
	V×D	96455.48	(2-1)(9-1)=8	12056.93	31.437 **
	B (VD)	13807.00	2×9(3-1)=36	383.52	
VDB	117201.32	54-1=53			
腎	要 因	S. S.	D. F.	M. S.	F ₀
	V	1280.90	2-1=1	1280.90	6.541 **
	D	7021.15	9-1=8	877.40	4.434 *
	V×D	794.93	(2-1)(9-1)=8	99.32	0.507
	B (VD)	7044.67	2×9(3-1)=36	195.67	
VDB	16141.65	54-1=53			

な差が見られなかつたが、これは対照実験で使用ペニシリン量も少く、従つてこの場合は考慮に入れない。

併し、MT群は、前処置として、マイシリンを使用した唯一の例である事、又同一処置を行つた Pn. P. T. (I), (II) 群中にも多少の差を認めた事、実験例が少い事、等の理由で、以上の諸点に関しては更に多くの実験を必要とするものと考ええる。

Pn群マウス各臓器中の肺炎双球菌Ⅲ型の数は夫々血液289万、肺370万、肝臓627万、脾臓712万、腎臓703万と極めて多数であるが、一方三橋¹⁰等はマウスに於ける実験チフス症に於て S. enteritidis SER 18

M株の臓器1g中の数は最高肝臓、脾臓では大体 10^5 - 10^6 個程度であつたと述べている。私の場合マウスは斃死せず、又病理組織学的にも顕著な変化が見られなかつたので菌交代症を再現出来たとは考えないが、四連球菌のマウス体内に於ける増殖度は変化させ得たものとする。

結 論

肺炎双球菌Ⅲ型、ペニシリン、マイシリン等を種々な組合せでマウスに接種し、正常マウスに対しては、これを斃死させ得ない四連球菌竹村株のマウス体内に

第4表 Pn. P. T. (I) - M. T.

	要因	S. S.	D. F.	M. S.	F ₀
血	V	6170.20	2-1=1	6170.20	5.500 *
	D	13442.85	9-1=8	1680.35	1.499
	V×D	11178.64	(2-1)(9-1)=8	1397.33	1.247
	B (VD)	40331.00	2×9(3-1)=36	1120.30	
	VDB	71122.69	54-1=53		
肺	要因	S. S.	D. F.	M. S.	F ₀
	V	5084.74	2-1=1	5084.74	5.07 *
	D	35640.15	9-1=8	4455.01	4.45 ***
	V×D	21762.59	(2-1)(9-1)=8	2720.22	2.717 *
	B (VD)	36035.69	2×9(3-1)=36	1000.98	
VDB	98523.15	54-1=53			
肝	要因	S. S.	D. F.	M. S.	F ₀
	V	1992.30	2-1=1	1992.30	4.017 *
	D	20468.60	9-1=8	2558.57	5.179 ***
	V×D	17153.30	(2-1)(9-1)=8	2144.16	4.323 ***
	B (VD)	17852.00	2×9(3-1)=36	495.88	
VDB	57466.6	54-1=53			
脾	要因	S. S.	D. F.	M. S.	F ₀
	V	9288.32	2-1	9288.32	1.066
	D	219037.83	9-1=8	27504.72	3.157 **
	V×D	82508.54	(2-1)(9-1)=8	10313.56	1.184
	B (VD)	313546.67	2×9(3-1)=36	8709.62	
VDB	64381.36	54-1=53			
腎	要因	S. S.	D. F.	M. S.	F ₀
	V	9288.32	2-1=1	9288.32	1.066
	D	219037.83	9-1=8	27504.72	3.157 **
	V×D	82508.54	(2-1)(9-1)=8	10313.56	1.184
	B (VD)	313546.67	2×9(3-1)=36	8709.62	
VDB	64381.36	54-1=53			

於ける増殖度を变化させる事ができた。

稿を終るに当り、終始御懇篤なる御指導と御鞭撻を賜つた恩師田崎教授に対し衷心より、敬意と謝意を表します。

又、御教示を賜つた本学那須教授、永原助教授、広沢講師に対し厚く感謝の意を表します。種々御援助を賜つた教室員各位並びに研究の機会を与えられた山口院長に対し御礼を申し上げます。

文 献

- ①Reimann, H. A. : J. Clin. Invest. 14 ; 331, 1935
 ②Reimann, H. A. : J. Bact. 31 ; 385, 1936 ③Reimann, H. A. : Ibid., 31 ; 417, 1936 ④Reimann, H. A. : Ibid., 33 ; 499, 1937 ⑤Reimann, H. A. : Ibid., 33, 513, 1937 ⑥Reimann, H. A. : Proc.

- Soc. Exp. Biol. & Med. 33 ; 344, 1935 ⑦Yamawaka, I : Mitteil. a. d. med. Fakult. d. Kaiser. Univ. Tokio. 11 ; 217, 1914 ⑧Tokikuni, T. & Tominaga, S. : Ibid., 19, 213. 1917 ⑨内藤正寿 : 日外学会誌, 33 ; 303, 1932 ⑩北原光, 田淵謙一 : 熊本医誌, 12 ; 2345, 1936 ⑪青木美典, 他 : 小児科診療, 20 ; 679, 1957 ⑫Brisou, J ; Presse Médicale, 17 ; 353, 1952 ⑬Weinstein, L ; New Eng. J. Med. ; 235 ; 101, 1946 ⑭Rosebury, T. : J. inf. Dis. ; 87 ; 217, 1950 ⑮Dearing, W. H., & Heilman, F. R. : Proc. Staff. Meet. Mayo. Clinic, 25 ; 87, 1950 ⑯Bierman, H. R., et al. ; Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 68 ; 395, 1948 ⑰三橋進, 他 : 日細菌 13 ; 704, 1958