

# Tween-80 加結核菌培地に対する血清の影響に関する研究

## 第1報 モルモット血清の影響について

昭和34年10月1日 受付

信州大学医学部細菌学教室 (指導: 田崎忠勝教授)

国立上田療養所 (所長: 伊藤富久衛博士)

柳 沢 雄 次

## Studies on the Influence of Serum on the Tubercle bacilli Medium Containing Tween-80

### Report 1 Influence of Guinea-Pig Serum

Yūji Yanagisawa

Department of Bacteriology, Faculty of Medicine, Shinshu University

(Director: Prof. T. Tazaki)

Ueda National Sanatorium

(Chief. Dr. F. Itō)

### 緒 言

抗酸性菌の培養を行なうに当り、培地に添加される Tween-80 (以下 Tw80) は、結核菌の疎水性に対して親水性を持たせる作用があり、また、多少栄養的に働らく物質であるといわれている。

Tw80 はこのような面もあるが、反面その中に含まれている遊離のオレイン酸による毒性も考慮しなければならない。この毒性を除くために Dubos<sup>①</sup> は Tw80 の精製、血清並びに血清アルブミン (Fraction V) の添加、また、Esterification した場合は結核菌に障害を与えないとのべている。Holmogren 及び Youmans<sup>②</sup> も同じようにアルブミンの添加を推奨している。また、Dazin<sup>③</sup> の記載するところによれば、M. Phlei を用いた場合の実験において、グルコースの酸化は Tw80 によつて妨害されるが、これに血清を加えると恢復することを報告している。

Dubos<sup>④</sup> は結核菌の培養期間の短縮について、ヒト及び牛血清並びにアルブミンを10%に培地に加えて使用しているが、その理由は、Tw80 の毒作用に対する保護作用があり、しかも微量の菌を接種した場合でも結核菌の発育を促進させることができるとのべている。

しかるに、Hemophilus 属においては、培養のために用いる血液の種類が明らかに記載されておりその理由は明瞭である。ところが、結核菌培養のための培地において、Dubos<sup>⑤</sup> は、アルブミンでなければいけないといっているがその理由については明記していない。

私はその点を明らかにするため振盪培養を用いて実

験を行つた。即ち、振盪培養については、Volk and Myrvik<sup>⑥</sup>、Miller and Roessler<sup>⑦</sup> 等が特に液体培地において酸素の供給を容易にするために振盪培養を行ない Generation time を短縮し菌の発育を促進させることに成功した。本邦では水野<sup>⑧⑦⑨</sup>、土屋<sup>⑩</sup>、川村<sup>⑪</sup>、戸塚<sup>⑫</sup>ら及び荒井<sup>⑬</sup>もこれにならぬ実験し同様の報告をしている。

私は Tw80 を1%に含んだ Sauton の無蛋白培地を用いて振盪培養を行ない。モルモット血清の結核菌に対する増殖抑制作用について実験し興味ある知見を得たので報告する。

### 実験材料、方法、

- 1) 使用菌、教室保存の人型結核菌 H<sub>87</sub>R<sub>V</sub> 株を用いた。
  - 2) モルモットは Römer 反応陰性の体重 450g 前後の健康なものを選び、心臓穿刺によつて得た血液から血清を分離して用いた。
  - 3) 試験管、逆T字管を作製片側を Reiz のセルに合わせ、比色に便利のようにした。
  - 4) 使用培地、Sauton 培地、アンモニアで pH を 7.2 に修正 (グリセリン、クエン酸ソーダ、アスパラギン) Tw80 は和製純正化学を用いた。
  - 5) 振盪培養器、孵卵器内へ振盪装置を備え外部にモーターをとりつけ、その軸に針金を連結し1分間の前後振動を100回に装置した。振盪数は機械の設計上これで行つても振盪能力が水野<sup>⑧</sup>の33回振盪と同じであつた。
  - 6) 振盪培養法、水野<sup>⑧⑦⑨</sup>の方法によつた。
- Sauton 培地 10cc を逆T字管にとり、高圧 120 度

15分間滅菌, Tw80 を1%になるように加え, 血清は培地当り 10, 100, 1000 倍の稀釈に添加した。各系列に血清を添加しない, 対照培地をおいたことは勿論である。結核菌は小川培地の菌を Sauton 培地に3代継代培養し(静置) 2週間位の比較的新らしい表面培養の菌膜を Tw80 0.5%として振盪均質液をつくり, この液を試験培地 10cc に 1cc 宛加えた。即ち湿菌量 5mg/cc を各試験管に接種したことになる。これでも均質な液にならないときは, 接種培地を3日間振盪培養した濁濁液を逆計算によつて, もとの菌量に修正し接種菌とした。増殖の観察は接種後 1~7日間行ない, 必要によつては3週間まで行つた。この間毎日光電比色計を用いて比色を行なつた。

7) 比色法, Reiz の光電比色計, Filter 640 m/u を用いた。

8) 生菌数の測定は適当に稀釈して3%小川培地に還元培養し, 生じたコロニーから求めた。

9) 5%炭酸ガス培養, 炭酸ガスの発生は Kipp の装置によつて発生したガスを飽和とみなし, 試験管容量を計算して5%炭酸ガス加空気とした。培養には綿栓をゴム栓と換え常に内容ガスを一定にした。

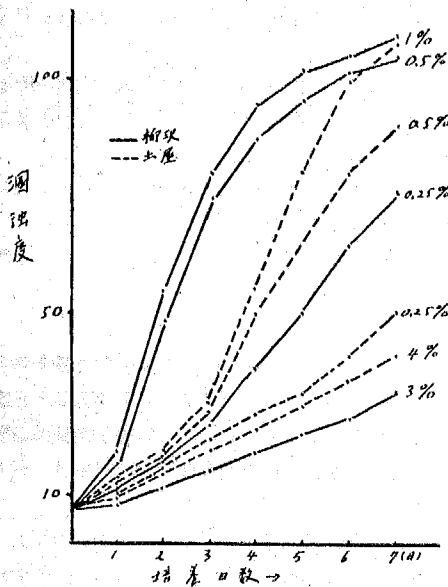
実験成績

I 振盪培養法の検討

1) Tw80 の量を変化させた場合の Optical density について(図1)

結核菌の振盪培養を行なうに当つて Sauton 培地

第1図 Tween-80 の量を変化させた場合の Optical Density



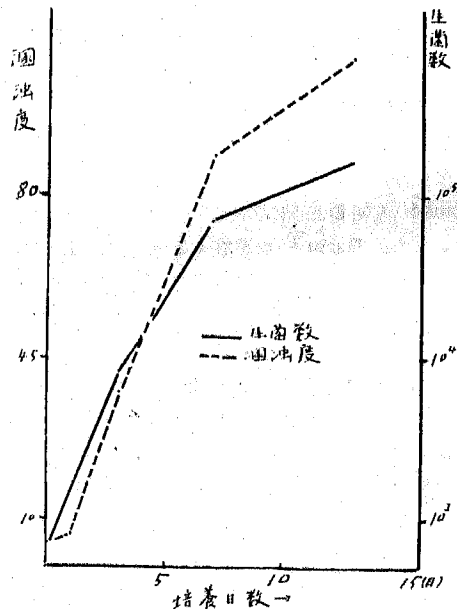
に対して添加される Tw80 を土屋<sup>⑩</sup>は0.02%で振盪培養可能な H<sub>R7RV</sub> 株の1培養系列を得たが再現性に乏しく, 1%では再現性はあるが0.02%の発育におよばないことを報告した。土屋<sup>⑩</sup>はその後1%でも0.02%に匹敵する増殖を知りこれを発表した。

私は Tw80 の添加量を0.25~4%に変化させた場合の影響について, 土屋<sup>⑩</sup>の行つた実験を対照として行つたところ, 1%及0.5%は有意の差がなく, 結核菌の発育増殖は培養後1日で対数発育を示し7日後に最大増殖が得られた。土屋の例と比較して1%では最高増殖は同じであるが, 調整期が比較的長く0.5%では1%ほどではないが大體一致していた。0.25%では濁濁度の上昇が0.5%より低かつた。また3%の Tw80 では増殖が算術級数的であつて, 土屋の4%でも同様の値である。

以上の実験結果から, Tw80 の添加量は1%が最もよいことがわかつたのでこれと全く同じ報告をしていた水野<sup>⑥⑦⑧</sup>の方法にしたがつて以下の実験を行つた。

2) 生菌数と濁濁度の関係について。(図2)

第2図 生菌数と濁濁度の関係



波多野<sup>⑨</sup>らは Optical density から全菌数或はその発育状況を推定しても大きい誤りはないと報告, 草間<sup>⑩</sup>は生菌数と濁濁度は一致していると報告しているので, それを追試して以下の成績を得た。

生菌数の測定は試験培地から適当に稀釈した培養液

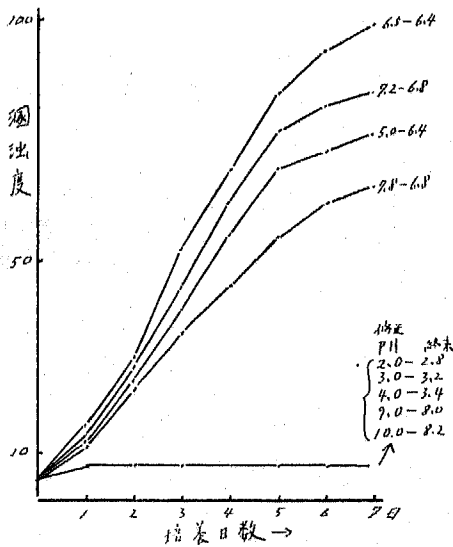
をとり、これを3%小川固型培地に0.1cc加え、生じたコロニーから生菌数を求めた。濁濁度は毎日光電比色計で測定した。

これによると生菌数は培養後3日では $2 \times 10^8$ , 6日では $90 \times 10^8$ , 13日では $104 \times 10^8$ , となり対数発育をしている。

濁濁度は生菌数と同時に比色によつて求めたが生菌数とほぼ一致しており、草間<sup>(10)</sup>の成績と同様であった。

3) Sauton 培地の pH の差異による結核菌の増殖について (図3)

第3図 Sauton 培地の pH の差異による結核菌の増殖

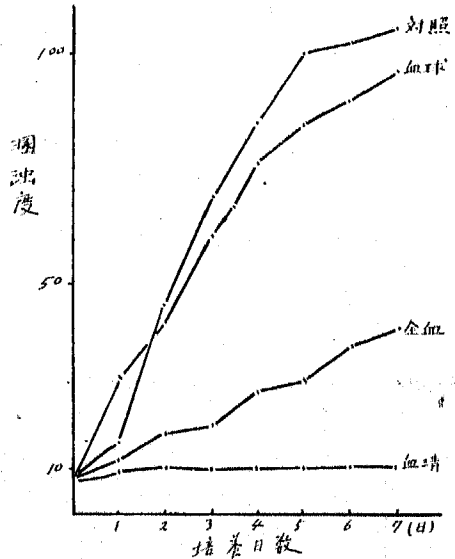


しからば Sauton 培地で結核菌はどの pH 域で最もよい発育増殖をするかについて実験した。即ち、pH を 1.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.5, 7.2 (本培地) 7.8, 9.0, 10 の9段階に修正して培養を行った。pH 2.0~4.0の間、及び9.0と10.0では結核菌の発育は全く認められなかつた。最もよいのは6.5であり、次いで7.2, 5.0の順であつた。pH 7.8は三者よりやや劣っていた。また、培養後7日目の終末 pH の変化は次の如く 5.0→6.4, 6.5→6.4, 7.2→6.8, 7.8→6.8であつた。酸性の場合はアルカリに、アルカリの場合は中性又は酸性に変化した。即ち Sauton 培地の pH は7.2であるが、本実験では6.5がすぐれていた。しかし両者に有意の差はないので以下7.2を用いた。

II Tw80 添加 Sauton 培地にモルモット血清を加えた場合の検討

1) モルモット全血, 血球, 血清 (働性) を加えた場合の結核菌の増殖に及ぼす影響について。(図4)

第4図 モルモット全血, 血球, 血清 (働性) を加えた場合の結核菌の増殖に及ぼす影響,



健康動物血球中には結核菌増殖促進物質があり、血液中、血清中には結核菌増殖阻止作用のあることは、今村<sup>(7)</sup>等により認められているが、その点を確かめるために実験を行った。しかし有色成分の比色にあつては水野<sup>(8)</sup>も報告しているが、結核菌の増殖を測定する場合、比色の誤差を生じ易いといわれている。この誤差を除くため培地に結核菌を加えないで血液、血球だけを加えて予かじめ比色しておき、結核菌の増殖を測定したあとで修正した。血球、血液、血清は培地10cc 当り 0.1cc 宛添加した。血球添加の場合は対照培地の発育と等しく Logarithmic であつた。全血は血球に比べて結核菌の増殖は算術級数的であつた。血清を加えた場合は培養後1~7日迄増殖度は全く変化なかつた。7日後の濁濁度は血球100, 血液40, に対して血清は培養初期と同じであつた。

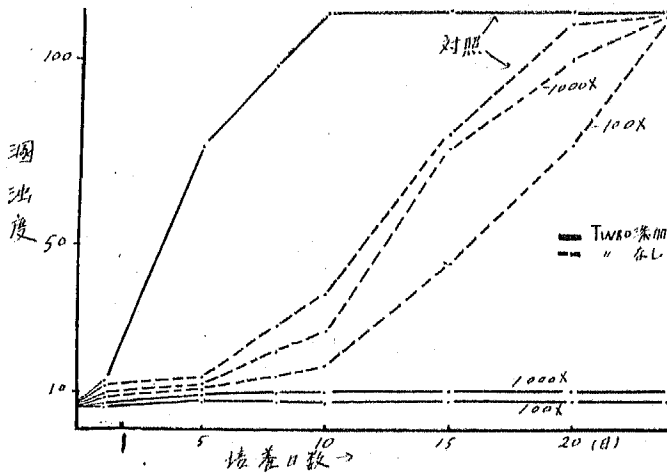
以上の結果から結核菌の発育に対しては、血球は対照培地と変りなく、血液はやや悪く、血清は全く抑制的であつた。

2) モルモット血清に対する影響について、

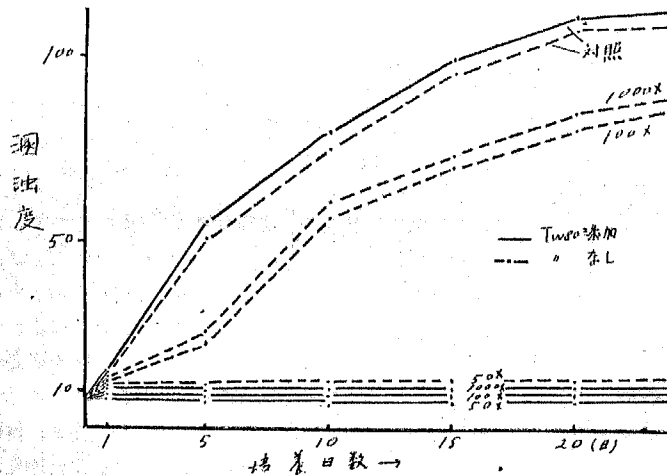
A) 血清稀釈添加と Tw80 の影響について、(振盪培養) 図5

以上の結果、モルモット血清を100倍に稀釈添加した場合、結核菌の増殖は比色法によつては意外にも全

第5図 血清稀釈添加と Tw80 の影響 (振盪培養)



第6図 血清稀釈添加と Tw80 の影響 (静置培養)



く抑制されているので、更に、1000倍まで稀釈して実験を行ない、あわせて、Tw80の有無と何らかの関係があるのではないかと考え以下検討を加えた。

その結果、対照は明らかに調整期が短く1日間であり、その後対数発育と比較的長い算術級数的発育が続き、培養10日後定常期に移行し2週後になつても減少期にはならない。これに反し血清添加1000倍の場合は培養初期と変りなく、3週後でも濁濁度の上昇は全く認められない。Tw80欠如培地の場合、対照は長い調整期が続き8日目ごろ対数期に入りそのご算術級数的発育から定常期に移行する。血清100倍、1000倍の場合増殖は悪く波型の発育であつた。

しかし、Tw80加対照 Tw80欠如対照、同血清100及び1000倍の4者は3週後では濁濁度が一致してい

た。

この結果 Tw80を加えた場合モルモット血清稀釈1000倍まで、結核菌の発育増殖を抑制していることが判つた。しかし、Tw80を加えない場合は血清稀釈100倍でも抑制しなかつた。

B) 血清稀釈添加と Tw80の影響について、(静置培養) 図6 振盪培養では Tw80 加血清100, 1000倍稀釈添加の場合結核菌の発育を抑制していたが、静置培養でもこのようになるか否かを検討した。血清の稀釈は50倍, 100倍, 1000倍について行つた。培養は条件を全く同一にするため逆T字管の培地をそのまま卵卵器においた。

Tw80欠如の場合は菌塊が試験管底に沈澱するので比色に当つて振つて一様にしてから測定した。Tw80加対照と Tw80欠如対照は同様な発育増殖を示した。即ち対数期は4日位で短く、算術級数的発育が4日から20日まで比較的長く、その後定常期に移行していた。Tw80欠如血清100倍, 1000倍の増殖は対照と似ていた。

一方、Tw80加培地の血清50, 100, 1000倍添加では最初から発育増殖が認められない。3週後でも全く濁濁度は変らなかつた。

この結果 Tw80欠如の場合は血清100倍及び1000倍では結核菌の増殖は抑制されなかつた。しかし血清50倍の場合は Tw80がない場合でも抑制されていた。一方、Tw80添加の場合は血清50倍から1000倍までいづれも結核菌の増殖を抑制していた。即ち静置培養でも振盪培養と同様の結果であつた。

C) 血清稀釈添加した場合の生菌数の消長について (振盪培養) 図7

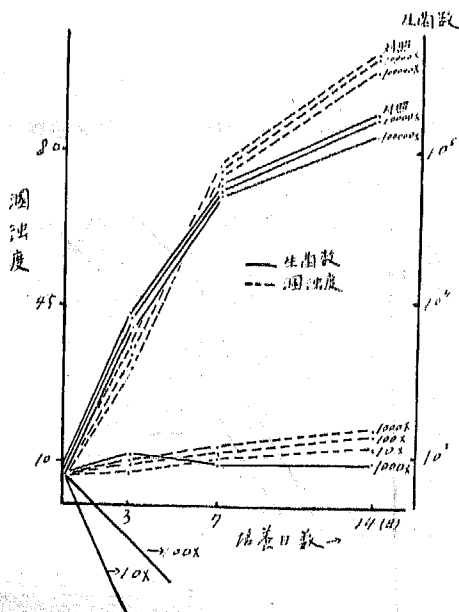
Tw80加血清稀釈100倍, 1000倍添加の場合は何れも比色法では増殖しないので、このことを更に確実にするため生菌数を測定した、血清は10倍→10万倍まで調べた。生菌数の測定要領は実験Iの2と同じよりに行つた。その結果は表1に示した。

それによると、Tw80加血清10及び100倍稀釈の

第1表 血清稀釈添加した場合の生菌数の消長 (振盪培養)

培養日	0	3				7				12日			
稀釈倍数	-1	1	-2	-3	1	-2	-3	-4	1	-3	-4	-5	
血清稀釈	10	800	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	
	100	850	0	0	0	90	0	0	0	10	0	0	
	1000	1000	150	12	90	0	10	120	10	0	1500	140	
	10,000	900	800	75	1000	1000	120	1500	1100	1100	1100	160	
	100,000	950	700	60	1000	1000	130	1100	1100	1100	1100	160	
対 照	1000	1200	110	110	1250	145	1300	150	1300	150	150	150	

第7図 血清稀釈添加した場合の生菌数の消長 (振盪培養)



場合は3日で既に生菌数が認められない。

1000倍稀釈の場合は2週間培養後にも菌量の増加がなく、血清1万倍及び10万倍においてはじめて対照と同様、培養日数が進むにしたがい生菌数の増加を認めた。即ち Tw80 加血清10倍及び100倍稀釈添加の場合は、比色法では発育阻止的であったが、生菌数をしらべたところ殺菌的に働いていることが分った。しかし、血清1000倍添加の場合は、生菌数を測定しても菌量的である。

D) 血清稀釈添加した場合の生菌数の消長について (静置培養) 表2

血清稀釈添加試験培地で、培養後1日、1週、2週、3週、4週間ごとに培養液を0.1cc宛3%小川培地に接種して還元培養を行った。接種後、斜面に生えたコ

第2表 血清稀釈添加した場合の生菌数の消長 (静置培養)

培養 血清 稀釈	培養					0.1cc 接種	
	1日	1週	2週	3週	4週	註	冊 培地全面
対照	冊	冊	冊	冊	冊		冊 〃 半分
10	冊	冊	冊	冊	冊		冊 〃 〃
100	冊	冊	冊	冊	冊		冊 〃 〃
1000	冊	冊	冊	冊	冊		冊 〃 〃
10000	冊	冊	冊	冊	冊		冊 〃 〃

+ コロニー = 100以下

ロニーを測定したが菌量が多く実験は失敗であった。表2のように対照培地及び血清1000倍、10000倍稀釈添加の場合は1日目から4週培養後も培地のコロニーは(冊)であり、定量的に菌の増殖度を測定できなかった。

しかしながら、血清稀釈10倍、100倍培地の場合は1週後にコロニーの減少を認めた。即ち Tw80 加血清10倍稀釈では生菌数が減少しており、少くとも静菌的に働いたということが推定される。

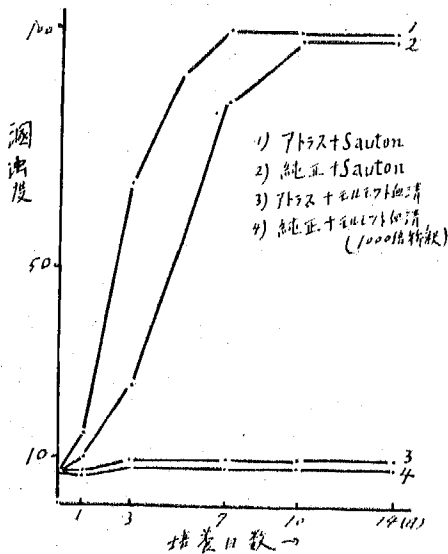
E) Tw80 の種類による影響について (図8)

Tw80 の中には遊離オレイン酸が含まれており、これが結核菌の発育に障害を与えるといわれているので、オレイン酸が一定しているアトラス Tw80 と日本製でオレイン酸の量が不明の純正 Tw80 を比較実験した。その結果、培養後純正は調整期が長く、しかも対数期になるのにアトラスより長い時間が必要であった。

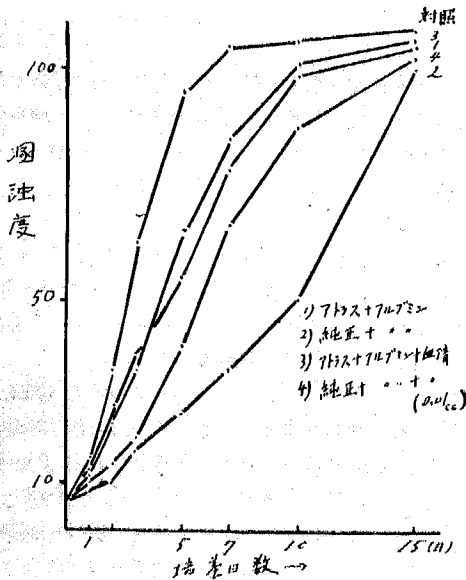
しかし最終的には増殖度は10日で一致し、定常期に移行している。Sauton 培地の Tw80 をアトラスと純正に分けて、血清稀釈1000倍添加の場合の結核菌の増殖抑制作用を見たが、Tw80 の種類によつて差は認められなかった。

F) 血清アルブミン (Fraction V) と Tw80 及びモルモット血清の関係について (図9)

第8図 Tw80 の種類による影響



第9図 血清アルブミン (Fraction V) と Tw80 及びモルモット血清の関係



Dubos<sup>①</sup> の培地では、血清アルブミン (Fracton V) を入れて培養しているので念のために、アルブミンを使用して実験した。

以下5つの組合せについて行つた。

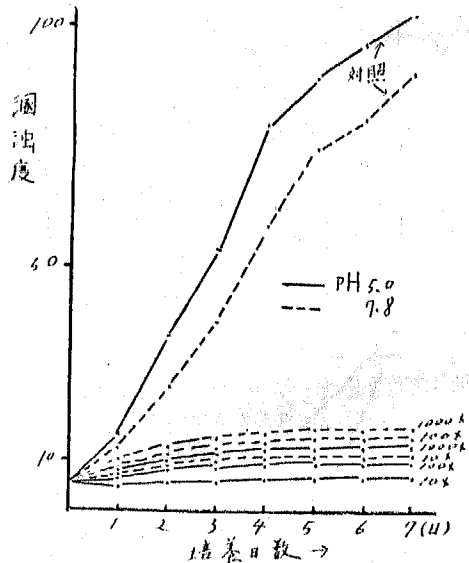
- (1) Sauton + アトラス Tw80 + アルブミン
- (2) Sauton + 純正 Tw80 + アルブミン
- (3) Sauton + アトラス + アルブミン + 血清

- (4) Sauton + 純正 + アルブミン + 血清
- (5) 対照 ; Sauton + アトラス Tw80 アルブミンは10%, Tw80 は1%, モルモット血清は1000倍に添加した。

(1) と (2) は対照と同様に発育することがわかつた。即ちアルブミンを加えた場合は血清を加えた場合と異り発育阻止はしていなかつた。(3) と (4) は更に血清を1000倍に添加した場合であるが意外にも、阻止的には働かないで結核菌の発育増殖はほぼ対照と同様で差はなかつた。しかしその理由は不明である。即ち、モルモット血清添加培地へ更に血清アルブミン (Fraction V) を10%に添加した場合は、結核菌の増殖抑制作用が認められなかつた。

G) Sauton 培地の pH の変化とその影響について (図10)

第10図 Sauton 培地の pH の変化とその影響

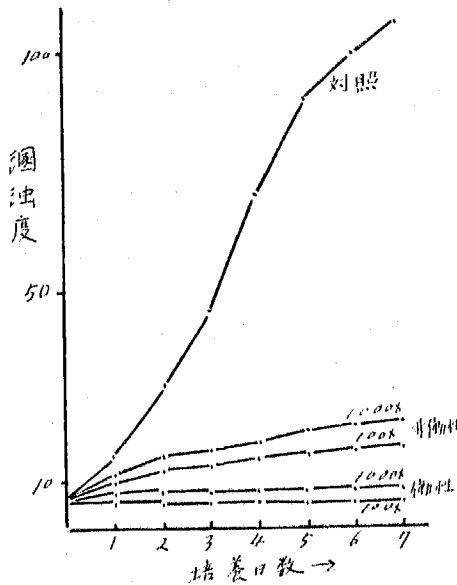


実験(3)によつて、結核菌の発育可能 pH は、5.0 ~ 7.8 の間であつて、中でも6.5が最もよかつた。そこで修正 pH の酸性最底5.0, アルカリ最高7.8の兩者について、モルモット血清の結核菌増殖阻止作用を見たが、pH の影響は認めなかつた。終末 pH は図10に示すように対照及び血清添加の場合とも差がなく5.0→6.4, 7.8→6.8 となつた。

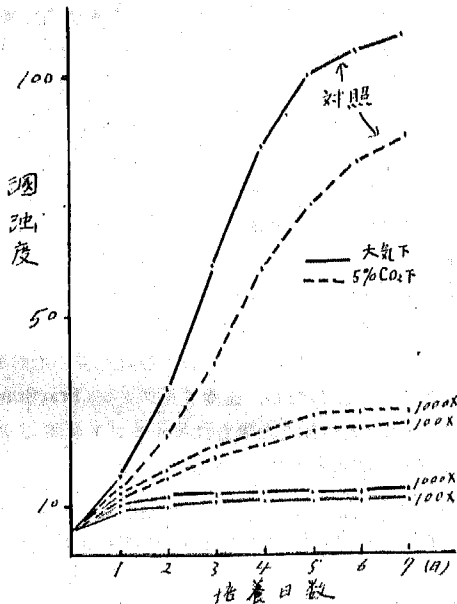
H) 血清非働化の影響について (図11)

血清を56度30分恒温槽中で非働化した場合結核菌増殖にどのような影響があるかについて実験した。非働性血清は、働性血清の場合に比べて、結核菌の増殖

第11図 血清非働化の影響



第12図 5%炭酸ガス培養の場合



阻止作用はややおとるような結果であつた。

1) 5%炭酸ガス培養の場合について(図12)

Sauton 培地の培養環境を、肺胞の空気と等しい5~6%の炭酸ガスにした場合、血清の結核菌増殖阻止作用が消失すると三浦<sup>6)</sup>がのべているので追試した。即ち、肺胞の空気と等しい5%炭酸ガス環境下において、血清が結核菌の発育増殖に対して、いかなる影響を及ぼすかについて実験した結果、対照培地では、5

%炭酸ガス培養の発育増殖は大気下に比べて悪かつた。モルモット血清添加培地では100倍及び1000倍稀釈共、逆に結核菌の増殖は、炭酸ガスを加えた場合は大気下に比べてやや上昇していた。即ち対照では程度は低い炭酸ガス下では結核菌の発育は悪かつた。血清を加えた場合は、結核菌の増殖抑制作用がやや低下していた。

総括及考按

抗酸性菌の振盪培養は、Myrvik<sup>4)</sup>、Miller<sup>6)</sup>等が、液体培地において、酸素の供給を容易にするために、振盪培養を行ない、静置培養に比べて、Generation time を短縮して、結核菌の発育を促進させることをのべている。また Wesley<sup>10)</sup>、Fisher<sup>20)</sup>、Fletcher<sup>21)</sup>等も振盪培養によつて、結核菌の直線発育について実験している。

しかしながら、Schaefer<sup>22)</sup> Kull<sup>23)</sup>等が、振盪培養に成功しなかつたのは、土屋<sup>10)</sup>は、Tw80の量が少なかつたのではないかといつているが、また、振盪回数が早過ぎたのではないかと Miller<sup>6)</sup> はのべている。即ち、振盪培養には Tw80 の量及び振盪回数、使用培地等種々の因子が関係していると考えられる。

本邦でも、水野<sup>7)</sup>、土屋<sup>10)</sup>、荒井<sup>14)</sup>、川村<sup>2)</sup>等が振盪培養を行ない、明らかに結核菌の発育増殖による影響のあることを報告している。

振盪培養の振盪回数及び角度については現在、水野<sup>7)</sup>は33往復の左右振盪を加えて培養を行っている。私は、自作の振盪装置を用いたが、振盪効果が悪く、従つて振盪回数を100回、前後往復15度にした。これでも水野の33回振盪と同様に、結核菌に対する物理的障碍はなく、一致した振盪効果であつた。

荒井<sup>14)</sup>も同様に30回で水平面に対して13度の上下運動で行つている。土屋<sup>10)</sup>は水野と全く同様、Monodの振盪培養器を用いて、同一の成績を報告している。

振盪培養に当り、培地に添加される Tw80 は、Dubos<sup>1)</sup>によれば、結核菌の Dispersed Growth を促進する要素であると発表した。

Schaefer<sup>22)</sup> は、0.02%に Tw80 を含む Dubos 培地の、H<sub>37</sub>R<sub>V</sub> 株の発育に対する研究から、Tw80 は、Dispersing 因子として働らくだけではなく、成長の Accelerator としても働らくとのべている。また、岩井<sup>24)</sup>は、Tw80 は試験管内に100 mg/cc 加えると、対照と比較して、菌の発育はよいが、これは直ちに Tw80 そのものの作用とは断じがたいとのべている。田井<sup>25)</sup>も、Tw80 は少なくとも、100~16000 倍稀釈範囲内では、発育抑制的ではなく、400~1000 倍稀釈添加すると、結核菌の発育がやや良好であつたと報告し

ている。また、高橋<sup>24)</sup>、原<sup>27)</sup>、山根<sup>28)</sup>等も、各々至適濃度で、接種量を多くすればよいこと及び代謝にも利用され、炭素源としても均等の発育をみるといつている。以上のように、Tw80 は結核菌に障害を与えないだけでなく、発育にもよいと報告されている。

また一方 Tw80 の毒性については Lauric Acid 及び Palmitic Acid のエステルは、結核菌を障碍するが、しかし、オレイン酸のエステルでは阻害しない。ところが Tw80 の 0.6% 不飽和脂肪酸を含み、これが結核菌に障碍を与えている。即ち、Scholer<sup>29)</sup> は結核菌 H<sub>37</sub>R<sub>V</sub> 株に対して、Tw80 は毒性があると報告している Bloch<sup>30)</sup> も、Tw80 の濃度が 0.06%~1% の間では、毒力の低下は僅少であつたとのべている。また、Morton<sup>31)</sup> は、あらゆる Tw80 は、0.05~0.5% の濃度で、組織培養の動物細胞に明らかに毒性があつたと報告している。この他にも Tw80 は、発育増殖を遅延させるといふものに Fisher<sup>32)</sup>、Youmans<sup>33)</sup>、Forrest<sup>34)</sup> がいる。

このような Tw80 の結核菌に対する毒性を除くために、多くの意見もあるが、Theodore<sup>35)</sup> は、Tw80 を精製して用いれば基礎培地に添加しても、何ら結核菌に障碍を及ぼさないことを認めている。Sattler、Youmans<sup>36)</sup> も、0.05% の Tw80 を含んだ Proskauer-Beck の改良合成培地及び Dubos の培地に培養された、H<sub>37</sub>R<sub>V</sub> 株の発育を窒素定量によつて測定した結果、Tw80 を精製することによつて、結核菌に対する阻害作用を除去でき、菌の発育に効果があると報告している。Dubos-Middle brook<sup>37)</sup> は、0.5% の割合で合成培地に加えられたアルブミンは、脂肪酸、フェノール、重金属と結合して、不純な Tw80 によつて培地中に存するオレイン酸の毒作用を阻止するともいつている。このように、Tw80 の毒作用に対して、これを除去する方法が考えられている。

また動物血清の結核菌に対する増殖阻止作用については、佐藤<sup>38)</sup>、伊藤<sup>39)</sup>、緒方<sup>40)</sup>等は血清中に、抑制因子のあることを認めており、今村<sup>41)</sup>がこれを総説として発表している。健康血清には、その本態は明らかではないが、結核菌の増殖を阻止する作用が存在し、血清の濃度及び被検血清の異なるにしたがい、相違したことを三浦<sup>42)</sup>も認めている。辻木<sup>43)</sup>は、免疫血清と健康血清は、培養後 1~2 日間において相違があるだけであると報告した。また前沢<sup>44)</sup>は初感染後の人体血清中に結核菌増殖阻止作用の現はれることをのべ、宝来<sup>45)</sup>も、血漿内における結核菌の発育は、健康モルモットで 18.6% を除き認められ、新鮮血清内では結核菌は増殖しないことを実験した。特にモルモット血清で

は、結核菌の増殖を阻止するといわれている。血清単独の場合は以上のごとくであり、私の実験でも、新鮮モルモット血清単独の場合では 50 倍まで増殖を阻止していた。また、Tw80 単独の毒作用は上述の程度である。

ところが Tw80 加培地に新鮮モルモット血清を加えた場合は血清 1000 倍稀釈添加で結核菌の増殖を完全に阻止していた。また、生菌数を測定した結果によると、血清 100 倍までは殺菌的であり、1000 倍では静菌的であつた。このようなことは、ここにのべた以外にもくりかえし実験を行つたが常に同一の結果であり、今までの文献にも見られない意外な事実である。Tw80 と血清を各々単独に用いる場合はこれほどはつきりした結果が得られなかつたので、以上の事実は Tw80 とモルモット血清の協同作用によるものと推定される。

#### 結 論

1) 振盪培養は水野の方法によつて行ない、その可能性を確認した。

2) Sauton 培地に Tw80 を加えた無蛋白培地で、振盪培養を行ない、これに新鮮モルモット血清を加えて実験を行つたところが、血清 1000 倍稀釈まで、結核菌の増殖を完全に阻止した。なお、生菌数測定の結果、血清 1000 倍稀釈までは静菌的であり、100 倍稀釈では殺菌的であることがわかつた。このことは、Tw80 と新鮮モルモット血清の協同作用であると推定される。

3) 以上の結核菌増殖阻止作用に及ぼす、各因子を追求したところ、pH の変動、血清非酸化、炭酸ガス培養、Tw80 の種類、振盪培養と静置培養の差異等では影響がない。ただし、血清アルブミン (Fraction V) を 10% に培地へ加えた場合はモルモット血清の発育阻止作用は認められなかつた。

稿を終るに臨み終始御懇篤なる御指導を頂き、御校閲を賜つた恩師田崎教授に深甚なる謝意を表します。また、研究の機会を与えて下さつた、国立上田療養所伊藤所長に御礼を申し上げます。

#### 文 献

- ①Dubos, R, J. : Am, Rev, Tuberc., 63 ; 119, 1951.  
 ②Holmgren and Youmans. : J. Bact. 56 ; 245, 1948. ③Egons Darzins. : The Bacteriology, of Tuberculosis. ④Volk and Myrvik. J. Bact., 66 ; 386, 1953. ⑤Miller and Roessler. : Am. Rev. Tuberc., 73 ; 716, 1956. ⑥青柳高明・水野



- 伝一：化学の領域, 10 ; 65, 昭31. ⑦青柳高明・水野伝一：日本細菌学会第29回演説抄録, P. 46, 昭31.  
 ⑧青柳高明・水野伝一：日本細菌誌, 12 ; 819, 昭32.  
 ⑨Mizuno, D. : J. Gen. Microbiol., 20 ; 180, 1959.  
 ⑩土屋皖二：日本細菌誌, 14 ; 1, 昭34. ⑪土屋皖二：武田研究所年報, 16 ; 39, 昭32. ⑫川村達・河合道：日本細菌誌, 12 ; 561, 昭32. ⑬戸塚忠政・他：日本医事新報, 1740 ; 42, 昭32. ⑭荒井舉二：信州医誌, 8 ; 7, 51, 昭31. ⑮波多野基一・他：第14回日本細菌学会関東支部総会演説抄録. ⑯草間久子：結核, 33 ; 3, 昭33. ⑰今村荒男：日本臨床結核, 15 ; 6, 昭31. ⑱三浦博：大阪大学医学雑誌, 7 ; 1, 2, 昭30. ⑲Wesley, A. : J. Bact., 66 ; 386, 1953. ⑳Fisher, M. W. : Am. Rev. Tuberc, 66 ; 758, 1952. ㉑Fahner, F. : Am. Rev. Tuberc, 68 ; 321, 1953. ㉒Schafer, W. B. : J. Bact. 58 ; 549, 1947. ㉓Kull, F. C. and Grimm, M.R. : J. Bact., 64 ; 431, 1952. ㉔岩井和郎：胸部疾患, 3 ; 4, 昭34. ㉕田井保良：胸部疾患, 2 ; 11, 昭33. ㉖高橋昭三：日新医学, 48 ; 8, 昭28. ㉗原之俊：日本細菌誌, 8 ; 8, 昭28. ㉘山根 績：福島医学誌, 3 ; 1, 昭28. ㉙Scholer, M. : Schweiz, Zeit, Allg, Pact, 15 ; 1, 1952. ㉚Bloch, H. H. Noll, : J. Exper. Med, 97 ; 1, 1953. ㉛Molton, H. J. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med, 74 ; 22, 1950. ㉜Forrest, M. C. : Natur, 160 ; 94, 1947. ㉝Theodore, H. : J. Bact, 56 ; 235, 1948. ㉞佐藤理太郎：実験医学雑誌, 10 ; 871, 大15. ㉟伊藤種次郎：結核, 8 ; 291, 昭5. ㊱緒方準一：結核, 10 ; 247, 昭7. ㊲辻本兵博：大阪大学医学雑誌, 4 ; 4, 昭27. ㊳前沢正久：結核, 33 ; 12, 昭33. ㊴宝来善次：結核, 17 ; 621, 昭15.