

臨床微生物学の「礎」を築いた人々

— 気道関連の微生物研究に携わった研究者達の技術と思索 — 2

*Diplococcus pneumoniae*と称せられるまでに 活躍した人々(その2)

帝京大学名誉教授
このまさとし
紺野昌俊
Masatoshi KONNO

前号では、肺炎の起炎微生物の探索は1875年のKlebs以来多くの研究者によって続けられてきましたが、その間にPasteurとSternbergとの論争があったこと、更にはFreidländerの論文が更なる論争の火種となったことに言及しました。Friedländerに関わる論争については既に多くの論評¹⁻⁴⁾が加えられておりますので、ここでは臨床微生物学にとって極めて大切と考えられる点について記すことにしました。

1882年に発表されたFriedländerの論文⁵⁾(註1)は、死に瀕した肺炎患者の肺を穿刺して得た組織切片をaniline-gentian violetを用いたWeigert-Koch法で染色し、繊維素に満ちた肺胞内に球状・楕円形の双球菌を顕微鏡下で見出したことにあります。それらの標本は今までに見たことのない程の鮮明な像でありました。(註2)

この間に発表されていた肺炎起炎微生物探索の主たる特徴は、肺炎患者からの微小物体は髄膜炎、胸膜炎、心内膜炎、関節炎および血液などからも見出されるところにありました。それらの中で、ベルリンの内科学会での“感染性肺炎”に関わる討議の中で、討論者の1人Güntherから肺炎患者の肺穿刺によって得られた膿汁中に双球菌が見出されたことが提示されましたが、その際にFränkelから“双球菌の周囲に空白な領域が見える”と指摘されていることが注目されます。それに対しGüntherは“縁のない莢(dull)”と答えております(註3)。

Friedländer⁶⁾もまた1883年9月に50例を上回る肺炎患者の肺組織を調べ、莢膜を有する菌の肺組織

からの単離・培養についての膨大な発表をしております。ただし、実験の対象となった検体は前回と異なり、死亡例からの肺切片でありました。

この組織と菌の莢膜を識別する染色法には、当時デンマークから留学していたGramも参加しております。染色は組織標本を酢酸で固定してaniline-gentian violetで予備染色し、アルコールで脱色の後にeosinで染色をしたとあります。グラム染色の原形とも言えますが、球菌は濃い青色のままであったと記載しています。また菌の輪郭はオスミウム酸で確認したとあります。

そして、その培養はブイヨンにペプトン、食塩、血清を加えたゲラチン培地上で肺の切片をこすり付けて室温で培養しております。24時間後、爪のように膨隆した集落が形成されております。これらの菌はジャガイモ培地や血清培地上でも発育したと記載されています。これらの菌も上述した染色法で莢膜が観察されたとありますが、その中の2例は桿菌状を呈しておりました。

Friedländerは上記の実験結果が一様でないことから、更に2例の肺切片の培養をしております。その2例からは爪状ではなく、中央が陥凹した小さな集落を形成する莢膜と非莢膜の球菌が見出されております。この2つの球菌はマウスに対して病原性を発揮することが認められましたが、それ以上の性状を調べることはしておりません。そして、もっぱら爪型の集落を形成する菌の動物に対する病原性を検討しております。結果は、家兎においては発症せず、モルモットでは11匹中6匹が死亡、マウスでは全例

註1: Friedländerは、この論文を発表した当時、ベルリン市立Friedrichshain病院の病理部門で肺炎と結核の業務に携わっておりました。また、ベルリンの死体検査の補助責任者に任命されております。言い換えれば、Friedländerは肺炎患者の肺組織を顕微鏡下で観察する機会が極めて多かったといえます。彼自身肺結核に罹患していたこともあって、この論文発表の5年後に40歳で亡くなっております。

註2: Weigert-Koch法にaniline-gentian violetを用いる方法はEhrlichによって考案されたもので、細胞内に滲出してきている繊維素が明瞭に判別できるという特徴がありました。このことは次号で記述します。

註3: Güntherの発言はvon Leyen E. Ueber infectiöse Pneumonie. Verhandl inn Med, Berlin. 1882; 2: 121-123の発表に対する討論の中のもので、要旨は前記の記録に続いてibid, 124-125に掲載されています。

死亡しておりますが、回収された菌の集落は爪状をしていましたが、莢膜は全例で確認できたのではないようです。それでもこの菌に Friedländer は *Pneumoniemikrokokken* なる名称を与えております。

後年、Austrian は論評⁴⁾として、爪型の集落は多分 Friedländer 桿菌であったと思われ、小さな集落こそ肺炎球菌であったのであろうと推測しておりますが、何故、それを見捨てたのかは判りません。しかし、Friedländer のその後の発言からは、集落形成の相違や菌の形態や莢膜の変化は、被検動物の体内における変異と考えていたようにも思われます。

Friedländer は自らの論文発表7カ月後の1884年4月にベルリンで開催された内科学会で、彼の論文と真っ向から対立する発表を Fränkel から聞くこととなります。Friedländer もまた同学会で Fränkel に続いて発表⁷⁾することになっておりました。ある意味では Fränkel の発表⁸⁾は Friedländer の出鼻を挫くようなものでありました(註4)。

Fränkel は Friedländer の論文公表の6カ月前に肺炎で死亡した男性の肺から菌を分離しておりました。培養には孵卵器を使用しており、発育した菌は一様ではありませんでした。Fränkel はそれらの菌の中から、皮下接種によって家兎を斃死せしめる菌に莢膜があることを見出してあります。しかし、繰り返し実験をすると、家兎を斃死させた菌でも斃死しない家兎があることをも認めてあります。つまり、彼の発表には Friedländer の論文と相違するところに躊躇するニュアンスが含まれておりました。それでも、家兎を斃死させた菌の集落は Friedländer の爪型の集落とは異なると述べてあります。

この発表に対して Friedländer は腸チフスにはバラ疹のような病態を呈するものがあるとの例を引き出し、肺炎の原因となる一つの微生物においても、その病原物質は一つとは限らないのではないかとコメントしております。恐らく、前述した菌の集落や形

態に見られる変化は被検動物体内における変異と捉えていたと思われる節があります。しかし、そのコメントは肺炎の原因となる微生物は一つとは限らないとの趣旨にも解される微妙な発言でありました。

2年後の1885年7月に開催された内科学会で、Fränkel は「Friedländer の論文にある小さな集落を形成する球菌は、自らが肺炎の起炎菌とした球菌と一致する」と発表^{9~10)}(註5)しました。それにより Friedländer の心の起伏は一層高まったようです。何故ならば、この肺炎起炎微生物に関わる論争は1886年に公表された Weichselbaum の論文¹¹⁾で一応の決着が見られたように思えるのですが、そうは行かなかったからであります。

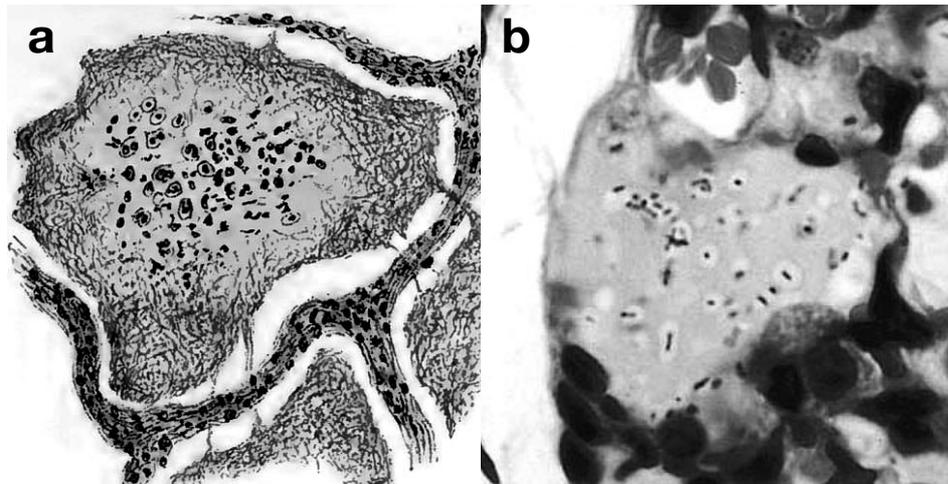
Weichselbaum の論文は「肺炎の初期段階で死亡した102例を含む129例の剖検例についての培養と病態の特徴から双球菌と爪型集落の桿菌を明確に区別することができる。また、両菌は共に莢膜を有しているが、爪型集落の桿菌は時に球状を呈することがある。加えて、双球菌は94例(73%)の組織標本中に認めることができたが、その内の54例から双球菌を分離できた。桿菌は9例から単独あるいは他の菌との混合で見出されており、1例では双球菌と共に培養された」というものです。そして、この双球菌に *Diplococcus pneumoniae* なる名称を与えてあります(註6)。

多くの論議を重ねてきた双球菌が肺炎の起炎菌であることはここで決着をみることになるのですが、Friedländer は同年11月に「Weichselbaum が肺炎から双球菌を培養できたのは3分の2である。それらの菌が Fränkel の主張する菌と一致しているとしても、肺炎の顕微鏡下で双球菌を最初に見出したのは当方である。グラムが考案した染色では球菌は染色され、桿菌は漂白されるが、共に莢膜を有していることが重要で、当方が見出した桿菌でも大葉性肺炎は惹起される」という見解¹²⁾を発表しております。

註4: Fränkel の演題は“Ueber die genuine Pneumonie”、Friedländer の演題も“Die genuine pneumonie”という共に「真の肺炎」という類似のものであったことも皮肉です。両者の記録は *Verhandl Kong inn Med.* 1884; 3 に記録されていますが、正式の記録は Fränkel のは文献8)、Friedländer のは文献7)に記載されています。

註5: Fränkel が1885年のベルリンの内科学会で発言した記録は *Verhandl Ver inn Med, Berlin.* 1885; 5: 78-138に掲載されていますが、論文としては文献9)が該当します。Fränkel は当時はベルリンの Am Urbanplatz 病院の医学部門の部長を務めており、註3に記した von Leyden と共に研究をしておりました。

註6: Weichselbaum の論文はそれまでに培われてきた多くの研究者の業績の上に立って、実に用意周到に実験を積み重ねたと言えるべきでしょう。この2年後に *Diplococcus pneumoniae* に関わる5編に亘る大論文を書いてあります。文献の1)に記した総説も彼の書いたものです、後年ウィーン大学の病理・解剖研究所の所長に就任しております。



a Friedländer の時代より多少後年になるが、手書きであった頃の大葉性肺炎における肺胞内 fibrin 滲出像 (Principles of Pathology. Ed JG Adami et al. Lea & Febiger, Philadelphia and New York. 1909)

b マウス実験的肺炎 (肺炎球菌 type3) にみられる肺胞像、滲出液中に莢膜を有する肺炎球菌が観察されている (紺野監修. 肺炎 (ビデオ VHS). (株) アイカム, 東京. 2002). 手書きの肺胞内に見られる顆粒や被膜に覆われた顆粒は何を意味するのだろうか。

この間にも多くの研究者によって追試が行われておりますが、追試の多くは Friedländer にとって不利なものでした。しかし、この双球菌が莢膜を有すること、あるいは菌の先端がランセット型を形成することから、細菌名については異論が多く、双球菌の発見者の一人である Sternberg¹³⁾ もまた論議に参加して *Micrococcus pneumoniae crouposae* なる細菌名を提唱したり、Foà & Bordoni-Uffreduzzi ら¹⁴⁾ は *Diplococcus Lanceolatus* なる細菌名を提唱しております。加えて、10 年ほど後のこととなりますが、Sternberg は「連鎖球菌ほどに長くはないが短い連鎖を形成する菌であるから連鎖球菌に加えるべきだ」との論説¹⁵⁾ をも加えております。結局、*Diplococcus pneumoniae* のあとに Weichselbaum なる名前のついた細菌名が正式に Bergy's manual¹⁶⁾ に記述されたのは 44 年後の 1930 年のことであります。残念ながら、Friedländer は註 1 に記したように翌 1887 年に亡くなっておりますので、これらの論議に参加することはできませんでした。

この号の終わりに 3 点について記しておきます。1 点は Fränkel が双球菌を繰り返し家兎に接種しても同じ結果が得られなかった理由は、その後間もなくして肺炎球菌の免疫学の発展に繋がって行きまし

た。2 点目は Friedländer は本当に負け犬だったのでしょうか。当時は鼻硬化症も多くの人に見られていたはずですが、汚水による洗面などに起因すると思われそうですが、*Klebsiella* 属による肺炎もまた多かつたのではないのでしょうか。研究の動向もまた時流に流される怖さを感じます。3 点目は Friedländer の最後の反論に Gram 染色が出てきましたが、次号では Ehrlich と Gram のお話をしたいと考えております。本号では、Friedländer が当初に繊維素で充満した肺胞内に見出した双球菌は確かに肺炎球菌であったと思えるのですが、何処で間違ったのかを考えて頂きたいと思っております。

文 献

- 1) Weichselbaum A. *Diplococcus pneumoniae* und andere bei entzündlichen Lungenaffektionen gefundene Bakterien. Handbuch der pathogenen Mikroorganismen 3bd (Ed Koll E, Wassermann A), Gustav Fischer, Jena, pp 189-255, 1903.
- 2) White B, Robinson ES, Baenes LA. History of pneumococcus. The Biology of pneumococcus. Commonwealth Fund, New York, pp1-29, 1983.
- 3) Austrian R. The Gram stain and the etiology of lobar pneumonia, an historical note. Bacteriol Rev, 24 : 261-

- 265, 1960.
- 4) Austrian R. Pneumococcus : The first one hundred years. *Rev Infect Dis.* **3** : 183-189, 1981.
 - 5) Friedländer C. Ueber die Schizomyceten bei der acuten fibrösen Pneumonie. *Virchow's Arch Pathol Anat Physiol*, **87** : 319-324, 1882.
 - 6) Friedländer C. Die Mikrokokken der Pneumonie. *Fortschr Med.* **1** : 715-733, 1883.
 - 7) Friedländer C. Weitere Bemerkungen über Pneumonie-Micrococcen. *Fortschr Med.* **2** : 333-336, 1884.
 - 8) Fränkel A. Ueber die genuine Pneumonie. *Verhandlungen des Congress fur innere Medicin. Dritter Congress*, **3** : 17-31, 1884.
 - 9) Fränkel A. Bakteriologische Mittheilungen. *Ztschr klin Med.* **10** : 401-461, 1885.
 - 10) Fränkel A. Weitere beiträge zur Lehre von Mikrococcen der genuinen fibrinösen Pneumonie. *Ztschr klin Med.* **11** : 437-458, 1886.
 - 11) Weichselbaum A. Ueber die Aetiologie der acuten Lungen-und Rippenfellentzündungen. *Medizinische Jahrbucher*, **1** : 483-554, 1886.
 - 12) Friedländer C. Weitere Arbeiten über die Schizomyceten der Pneumonie und der Meningitis. *Fortschr Med.* **4** : 702-705, 1886.
 - 13) Sternberg GM. Der Micrococcus der sputumsepticaemia (M. Pasteuri, Stenberg). *Dtsch med Wchenschr.* **13** : 44, 1887.
 - 14) Foà P, Bordoni-Uffeduzzi. Ueber die Aetiologie der "Meningitis cerebro-spinalis epidemica". (Translation). *Ztsche Hyg Infectionskr.* **4** : 67, 1887.
 - 15) Sternberg GM. The etiology of croupous pneumonia. *Natl med review.* **7** : 175-177, 1897.
 - 16) Bergey DH. *Bergey's manual of determinative bacteriology. A key for the identification of organisms of the class Schizomycetes.* 4th Ed. Eilliams & Wilkins Co, Baltimore. 1934