淋菌ノ「バクテリオファージ」ニ就テ

Dr. K. Nishio: Über die Bakteriophagen gegen Gonokokken.

九州帝國大學醫學部皮膚科泌尿器科教室（高木教授）

西 尾 喜 平 治

目 次

第1章 緒 言

第2章 研究材料及ビ方法

第3章 「バクテリオファージ」ノ採取

第1節 膿汁及ビ尿ヨリ採取シ得ルヤ

第2節 淋菌ノ純培養ヨリ採取シ得ルヤ

第1項 Pelouze and Schofield ノ方

法ニ就テ

第2項 陳舊培養ヨリ採取シ得ルヤ

第3項 腹腔内注射ニヨル動物ノ腹腔 内浸出液ニ就テ

第4項 蛋白分解酵素ヲ用ヒタル實驗

第5項 免疫血清又ハ種々ノ化學的藥 品ヲ加ヘタル實驗

第4章 結 論

第1章 緒 言

淋菌ノ Bacteriophage 即チ Gonophage ニ關スル文献ハ極メテ少ナク僅カニ米ノ Pelouze and Schofield (1927) 及ビ獨ノ Schmidt-Labaume und Fouroubert (1929) ノ2報告アルノミニシテ前者ハ淋菌ノ純培養ヨリ Bacteriophage ヲ採取シ得タルヲ報ジ、後者ハ實驗的ニ種々ナル方法ヲ以テ Bacteriophage ノ獲得ヲ試ミタルモ不可能ナリシヲ主張シ最後ニ Pelouze and Schofield ノ採取方法ヲ以テスルモ陽性ノ成績ヲ收メ得ズト反駁セリ。

Pelouze and Schofield 氏ハ Bacteriophage ハ固形培養基ニ最モ克ク吸收セラル、トイフ Arnold (1923) 氏ノ說ニ基キ Bacteriophage ヲ人工的ニ獲得セント努メタリ 即チ陰囊水腫液加寒天培養基(2.5%寒天培養基4分、陰囊水腫液1分ノ比ニ混和シテ製センモノ P.H. 7.3乃至7.6)ノ斜面ヲ利用シ、淋菌ヲ移植シ14乃至21日間攝氏37度孵卵器ニ放置シ、充分自家融解ヲ起サシメタル後、其内容ヲ精細ナル「モスリン」ニ包ミテ外壓ヲ加ヘテ液ヲ壓出シ、得タル壓出液ニ少量ノ蒸餾水ヲ添加シ適當ニ稀釋ス。(一斜面ニテ約20.0ccニナルマデ稀釋ス)然ル後之ヲ濾過管ニテ濾過セリ。而シテ氏等ハ此ノ濾液中ニ淋菌ノ Bacteriophage ヲ含有セル事ヲ證明シ、更ラニ種々檢査シタルニ Bacteriophage ハ淋菌ニ對シ特異性ヲ有シ、然カモ他ノ細菌ノ Bacteriophage ニ見ルト何等異ナラザル一般性質ヲ俱有セルヲ發見セリ。

余淋菌ノ培養ニ從事スル事年餘、偶々之等ノ報告ニ接シ頗ル興味深キヲ感ジ、現今利用セラルル Bacteriophage 採取法ヲ用ヒテ專ラ淋菌ノ Bacteriophage ノ檢出ニ努力シタルモ不幸未ダ其ノ目的ヲ達セズ。然リト雖モ一般細菌ノ Bacteriophage ニ關スル研究ハ續々トシテ發表セラレ、此ガ研究業績ハ定ニ學界近時ノ一大盛觀タルヲ失ハザルノ有様ナリ。此ノ秋ニ當リテ臨床上拔群ノ淋疾治療劑ヲ見出シ能ハザル今日 Gonophage ノ如キモノヲ得テ之ヲ治療ニ應用センカ、此ガ斯界ニ及ボス貢獻ハ大ナルモノアラント信ズ。是レ余ガ余ノ失敗ヲモ顧ミズ、此所ニ本稿ヲ公表スル所以ニシテ聊カタリトモ裨益スル所アラバ余ノ最モ幸甚トスル所ナリ。

第2章 研究材料及ビ檢出法

試驗材料ハ九州帝國大學醫學部皮膚科泌尿器科教室外來及ビ入院ノ淋病患者ノ外尿道口ノ膿汁及ビ尿ニシテ、淋菌ハ同時ニ膿汁ヨリ血液寒天及ビ腹水寒天ニヨリテ分離培養シテ得タルモノヲ使用セリ。

Bacteriophage ノ檢査方法ハ主トシテ Bail 氏ニ倣ヒテ平板法ヲ利用シ、同時ニ「ブイヨン」法ニテ增強ヲ試ミ後更ラニ平板法ニテ檢査セリ。平板法ニハ腹水寒天(腹水1分, 2.3% 寒天培養基3分ノ比ニ混ジタルモノ)、「ブイヨン」法ニハ腹水「ブイヨン」(腹水1分, 「ブイヨン」3分ノ比ニ混和シタルモノ)ヲ P.H 7.4 ニ矯正シタルモノヲ使用セリ。

平板法ヲ行フニ當リテハ豫メ平板ヲ蠟鉛筆ヲ以テ十字形ニ4區分シ、d, 1/2, 1/3, 1/4 ノ記號ヲ附シ置ク。假想「フアーヂ」含有原液ヲ d. (即チ driekt ノ意) ト稱シ、其ノ第1稀釋液即チ白金耳ヲ以テ原液1滴ヲ「ブイヨン」又ハ腹水「ブイヨン」1.0 cc 中ニ混ジ 1/2 トシ、第2稀釋液即チ 1/2 液1滴ヲ「ブイヨン」又ハ腹水「ブイヨン」1.0 cc 中ニ混ジ 1/3 ト稱シ、第3稀釋液即チ 1/3 液1滴ヲ更ラニ 1.0 cc ノ「ブイヨン」又ハ腹水「ブイヨン」ニ稀釋シタルモノヲ 1/4 ト稱ス。而シテ檢査ノ際ハ4等分シタル平板面 d ト記號アル部ニ白金耳ヲ以テ「フアーヂ」原液1滴ト菌液1滴トヲ混ジタルモノヲ塗り、1/2 ト記號アル部ニハ第1稀釋液1滴ト菌液1滴トヲ塗布ス。以下 1/3 ニハ第2稀釋液ヲ、1/4 ニハ第3稀釋液ヲ同様ニナシテ塗布ス。斯クシテ後直チニ之ヲ攝氏37度孵卵器ニ納メル事1夜、翌日其ノ結果即チ菌溶解ニ依ル空孔形成ノ有無ヲ時間的ニ檢査ス。更ラニ場合ニヨリテハ24時間以上ニ亘リテ觀察セリ。

被溶菌ハ16時間乃至20時間腹水寒天培養ノ新鮮ナルモノヲ撰ビ、其ノ一白金耳ヲ「ブイヨン」1.0 ccニ稀釋シタルモノヲ使用セリ。腹水寒天平板ハ使用前孵卵器ニ納メ表面ニ有スル水分ヲ蒸發セシメタル後用フル事トセリ。

第3章 「バクテリオフアーヂ」ノ採取

第1節 膿汁及ビ尿ヨリ採取シ得ルヤ

余ハ急性尿道淋8例、亞急性尿道淋4例、慢性尿道淋2例、急性尿道淋兼急性副睪丸炎2例、淋菌性關節炎兼急性尿道淋1例、合計17例ニ就テ種々ノ時期ニ於テ其排泄スル膿汁及ビ尿ヲ「ブイヨン」及ビ腹水「ブイヨン」ニ培養シ攝氏37度孵卵器内ニ置キ、1日乃至月餘ノ種々ナル時期ニ於テ Chamberland 氏濾過管ヲ用ヒテ其ノ内容ヲ濾過シ、得タル濾液ニ就テ反覆之ガ採取ヲ試ミタルモ遂ニ目的ヲ達スル能ハザリキ。尙ホ直接尿ヲ濾過シ同様試験シタルニ陰性ノ結果ニ終レリ。

更ラニ余ハ攝護腺ヲ犯サレタル患者ニ就テ攝護腺ヲ壓迫シテ得タル攝護腺液ヲ同様處置シテ Bacteriophage ヲ得ント企テタルモ不能ナリキ。

第2節 淋菌ノ純培養ヨリ採取シ得ルヤ

第1項 Pelouze and Schofield ノ方法ニ就テ

Pelouze and Schofield ノ方法ニ就テハ緒言ニ於テ既述シタリ。只同氏等ノ Bacteriophage ノ檢出法ハ一般ト異ナリ特種ノ方法ヲ撰ビタリ。即チ被溶菌液トシテ淋菌ヲ24時間培養シタル陰囊水腫液加寒天斜面培養基内ニ約 10.0 cc ノ陰囊水腫液 (P.H. 7.6) ヲ加ヘ平等ニ淋菌ヲ浮游セシメタルモノヲ用フ。此ノ菌液 2.0 cc ヲ2ツノ小試験管ニ入レ其一ツニハ假想「ファージ」含有液ノ 1.0 cc ヲ注ギ、他ノ一ツニハ對照トシテ其ノ儘ヲ攝氏37度孵卵器ニ納メ24時間ヲ經テ其等ノ1白金耳ヲ各陰囊水腫液加寒天培養基平板ニ移シ再ビ37度孵卵器ニ培養シ時間的ニ「ファージ」ノ有無ヲ檢セリ。而シテ氏等ハ觀察ノ結果對照ニハ充分ニ淋菌ノ發育ヲ見タルモ假想「ファージ」含有液ヲ加ヘタルモノニ於テハ發育セズトナシ以テ直チニ「ファージ」ノ存在ヲ肯定セリ。

余ハ同氏等ト同様ノ實驗方法ニ依リ、石松、笠、松本、白石、宮田、古屋、比田勝、中野、林、小池ノ十種ノ淋菌株ヲ用ヒテ「ファージ」採取ヲ實驗シタルモ陰性成績ヲ得タリ。更ラニ「ブイヨン」法ニヨリテ增強ヲ行ヒ檢出ニ努メタルモ遂ニ目的ヲ達セザリキ。

次ニ余ハ Pelouze and Schofield 氏ノ「ファージ」檢査法ニ就テ一言セン。

氏等ハ陰囊水腫液ニ淋菌ヲ浮游シタル菌液ト假想「ファージ」含有液トヲ加ヘタルモノヲ24時間血溫ニ保チ後平板ニ移シ再ビ37度ニ培養シソノ結果對照ニ於テハ充分ニ聚落ノ發生ヲ見タルモ「ファージ」ヲ加ヘタルモノニハ何等發生セズ。之ヲ以テ直チニ「ファージ」ノ存在ヲ肯定シ、「ファージ」檢出ニ特有ノ空孔形成ニ就テハ些少ノ記載アルヲ見ズ。吾人ハ平板法ニ據ル「ファージ」檢査ニ當リテハ常ニ菌溶解ノ證據タル空孔形成 Lochbildung ヲ認メタル後「ファージ」ノ存在ヲ確認スルモノニシテ、Pelouze and Schofield 氏ノ之ニ言及セザリシハ最モ遺憾トスル所ナリ。

第2項 陳舊培養ヨリ採取シ得ルヤ

余ハ腹水「ブイヨン」培養基ニ淋菌(前記10種)ノ1週間乃至2ヶ月ノ陳舊培養ヲ作リテ檢

セシニ遂ニ Gonophage ヲ獲ル能ハザリキ。

第3項 腹腔内注射ニヨル動物ノ腹腔内浸出液ニ就テ

Bordet et Cinca ハ生活セル大腸菌ヲ5日ノ間隔ヲ置キテ反覆海狸ノ腹腔内ニ注射シ最終注射ノ翌日採取セン腹腔浸出液ガ D' Herelle 氏現象ヲ呈シ、且ツ世代ヲ續ケ得ルヲ見タリ。余モ亦淋菌ノ種々ノ量ヲ一定量ノ「ブイヨン」ニ稀釋シ海狸ノ腹腔内ニ注射シ5乃至6日ノ間隔ヲ置キテ之ヲ反覆スル事數回、得タル腹腔内浸出液ヲ濾過シ「フアーヂ」ノ有無ヲ檢シタルモ結果ハ陰性ニ終レリ。

第4項 蛋白分解酵素ヲ用ヒタル實驗

Coubiesco ハ「エンテロキナーゼ」Enterokinase 及ビ「トリプシン」Trypsin ニハ D' Herelle 氏現象ヲ惹起ス可キ溶菌作用アルヲ主張シ、Hoden und Suzuki, Mc Kinley, 山口等モ細菌ニ蛋白酵素ヲ作用セシメタルニ Bacteriophage ヲ採取シ得タルヲ報告セリ。

余ハ蛋白酵素タル「パンクレアチン」Pankreatin, 「トリプシン」Trypsin, 「プロタミラーゼ」Protamilase, 「パンクレオン」Pankreon ノ4種ヲ用ヒテ實驗セリ。其内「パンクレオン」「トリプシン」及ビ「パンクレアチン」ノ3種ヲ添加スル時ハ淋菌ノ發育ヲ來サザリシヲ以テ「プロタミラーゼ」ノミヲ以テ實驗ヲ試ミタリ。即チ「ブイヨン」ニ「プロタミラーゼ」ヲ2.0%ノ比ニ混和シ氷室ニ一晝夜放置シ、後之ヲ Chanbealand 氏濾過管ヲ用ヒテ濾過シ、濾液ヲ試験管ニ分注シ、同量ノ腹水「ブイヨン」ヲ注加シタル後淋菌ノ移植ヲ行ヒ攝氏37度ノ孵卵器ニ置ク事2日乃至2週間、其間其内容ヲ濾過シテ「フアーヂ」ノ有無ヲ檢査セリ。淋菌ノ發育ハ對照ニ比シ極メテ不充分ニシテ且ツ早期ニ死滅スル傾アリ。實驗ノ結果ハ陰性ニ終レリ。

第5項 免疫血清又ハ種々ノ化學的藥品ヲ加ヘタル實驗

Otto und Winkel 氏ハ免疫血清又ハ昇汞水ヲ、伊澤氏ハ石炭酸ヲ加ヘ、又ハ振盪スル事、即チ生菌ニ一種ノ障害ヲ與フル事ニヨリテ「フアーヂ」ノ產生ヲ促ス事ヲ報告セリ。

余ハ淋病患者血清(補體結合反應陽性ノモノ)及ビ淋菌ノ家兔免疫血清ヲ1對5ノ比ニ普通「ブイヨン」ニ添加シ淋菌ヲ移植シ2日乃至3週間37度孵卵器ニ納メ、其ノ間「フアーヂ」ノ出現ヲ檢査シタルモ目的ヲ達スル能ハザリキ。尙ホ腹水「ブイヨン」ニ24時間淋菌ヲ培養セシモノニ前記血清ヲ注加シ同様37度ニ保チ時間的ニ「フアーヂ」檢出ニ努力シタルモ陰性ニ終レリ。

昇汞水又ハ石炭酸ヲ少量宛腹水「ブイヨン」ニ添加シ淋菌ノ培養ヲ試ミ發育ヲ見タルモノニ於テ「フアーヂ」檢出ヲ試ミタリ。昇汞水添加ノモノニハ淋菌ハ發育セズ。石炭酸添加ノモノニテハ1.0%水溶液水「ブイヨン」100.0ccニ對シ1.0ccヲ加ヘタルモノニ於テ僅カニ發育セリ。又腹水「ブイヨン」ノ淋菌24時間培養ニ昇汞水又ハ石炭酸ノ少量ヲ加ヘタルモノニ就テ「フアーヂ」檢出ニ努メタルモ何レモ陰性ノ結果ヲ得タリ。

第4章 結 論

- 1, 淋病患者ノ排泄物即チ膿汁, 攝護腺液及ビ尿ヨリ「バクテリオファージ」ヲ採取スル能ハズ。
- 2, Pelouze and Schofield 氏ノ陰囊水腫液加寒天培養基ヲ以テスル淋菌陳舊培養ヨリ「バクテリオファージ」ヲ採取スル能ハズ。
- 3, 淋菌ノ腹水「ブイヨン」陳舊培養ヨリ採取スル能ハズ。
- 4, 淋菌ノ腹腔内反覆注射ニヨル動物ノ腹腔浸出液ヨリ「バクテリオファージ」ヲ檢出スル能ハズ。
- 5, 淋菌ニ蛋白分解酵素ヲ添加スル方法ヲ以テスルモ「バクテリオファージ」ヲ獲ル能ズ。
- 6, 免疫血清及ビ患者血清ヲ添加シ「バクテリオファージ」檢出ニ努メタルモ採取スル能ハズ。
- 7, 石炭酸及ビ昇汞水注加ノ方法ヲ以テスルモ「バクテリオファージ」ヲ採取スルヲ得ズ。

終ニ臨ミテ終始懇篤ナル御指導ト御校閲ヲ賜ハリシ, 小川, 高木兩教授ニ謹謝ス。

Literatur

- 1) Bail: Med. Klinik. Nr. 34, 1925.
- 2) Conbiesco: Cent. f. ges. Hyg. Bd. 11, H. 10, 1923.
- 3) D' Herelle: Der Bakteriophage und seine Bedeutung für die Immunität. 1922
- 4) 江口忠六: 南滿醫學會雜誌 第12卷, 第5號.
- 5) Hoden u. Suguki: Cent. f. Bact. etc. Orig. I Abt. 1926. s. 433.
- 6) 伊澤知實: 慶應醫學 第6卷, 第5號.
- 7) Koll und Hetsch: Bakteriologie. Bd. 1, 7. Aufl. 1930.
- 8) Mc Kinley: Journ. of Bact. 1923. p. 54.
- 9) Otto und Muuter: Med Wochenschrift, Nr. 52, 1921, s. 1579.
- 10) Otto und Winkler: D. M. W. 1922, s. 383.
- 11) Pelouze and Schofield; Journ. of Urol. 17. Nr. 4. 1927.
- 12) Schmidt-Labaume und Fourouart: Cent. f. Bact. etc. I Abt. Orig. Bd. 112, H. 5, 1929. s. 379.
- 13) 鈴木潔: 治療及處方 昭和4年3月號.
- 14) Walter Seiffert: Med. Klinik. 1922, s. 383.
- 15) 楊子韜: 福岡醫科大學雜誌 第22卷, 第10號.
- 16) 横山俊久: 細菌學雜誌 第344號.

of the patients were residents of Osaka city and 16.55% were from Hyogo prefecture and 9.27% from Osaka prefecture. The rest were from various prefectures.

7. The most common and frequent symptom was the pain at micturition (81.45%), frequent micturition (76.82%), intermittent stream (52.31%) and Haematuria. There were 35.09% cases which had the first three mentioned symptoms combined.

8. Nearly 34.43% of the cases were diagnosed as possible descending stone but the most of the cases, with exception of primary stone in woman, were not certain whether they were of primary of descending.

9. The presence of calculi in 83.44% of the cases were definitely determined by the use of cytoskope. The other cases of 10.59% were examined by the other methods.

10. The lithotriptic method was used on 71.52% of the cases and 5.29% of cases were necessary to treat with cutting operation. The former was 13.5 times of the latter.

The author takes this opportunity to express his grateful thanks to Dr Ijiri, the director of the hospital, for his patient guidance on this work and his kindness in reading and correcting the manuscript.

Aus der dermato- urologischen Klinik der Kaiserlichen Universität zu Fukuoka.

(Vorstand der urol. Abteilung: Prof. Dr. S. Takagi).

Über die Bakteriophagen gegen Gonokokken.

von

Dr. K. Nishio.

Mit den verschiedenen Methoden (von Harn, Urethral- und Prostata-sekret der Gonorrhöikern, und Reinkultur der Gonokokken) unternahm Verfasser die genauen Untersuchungen über die Erzeugung von Bakteriophagen gegen Gonokokken. Aber die Resultate waren stets negativ.