我が国における Pleuropneumonia like Organisms の生物学的性状並びに血清学的性状の検討

慶応義塾大学医学部皮膚泌尿器科教室 荒井 秀雄
(主任: 田村一教授)

A STUDY OF SOME BIOLOGICAL AND SEROLOGICAL CHARACTERISTICS OF PPLO IN JAPAN

Hideo Arai

Department of Dermatology and Urology, School of Medicine, Keio University
(Director: Prof. Dr. H. Tamura)

Summary

In order to find the normal distributions of PPLO in Japan, 15 new isolated strains were compared with 2 strains of Campo and O7 which are standard ones in the United States.

1. In the fermentation, those 5 strains which are of No. 13, No. 132, SM, Hirabayashi, and S showed different results.

2. In the susceptibility of antibiotics, considerable differences were recognized. Particularly, 3 strains of Fujinami, Yabe, and No. 13 not only were more in penicillin, but also were different in chloramphenicol and streptomycin.

3. In the thallium acetate and crystal violet, different results were obtained in the 6 strains of Yabe, No. 130, No. 132, SM, Hirabayashi, and S.

4. From the results of complement fixation test, the strains used in this experiment could be classified into the 4 kinds of types, and type III, which had different antigen structure with the United States strains used as controlled groups, were more found comparably.

From the results of these experiments, the following conclusion may be made that there are different types of PPLO in Japan from those in the United States and Europe.

牛に於ける牛肺炎, 山羊, 羊に於ける傳染性乳汁閉塞症の病原体が, 夫々 *Asterococcus mycoides* 及び *Annuromyces agalactiae* である事は既に明らかにされたところである。これらは *Pleuropneumonia Organisms* として一括して取扱われ, これらに関する細菌学的, 畜産学的研究業績は可成り多く報告されており, 又これらの疾病に対する予防, 治療も講ぜられている。しかしながら, これらと極めて類似の性格を有すると思われる *Pleuropneumonia like Organisms* (PPLO) の問題に関しては, 未だ詳細な研究が爲されておらず, 特に人に対する病原性に関しては未開の領域であるというも過言ではない。

その問題の根本に横わるものは, PPLO の正常分布に関する調査の不足に基くものがある。即ち過去に於ける正常分布の調査報告は極めて多種多様で, Dienes, Melén, Freundt, Morton その他の諸家の報告は必ずし

も一致しない。

この問題に関連して, 著者等は日本人における正常分布の調査を目下続行しており別途に報告するが, この成績を直ちに欧米におけるそれと比較することに多少の問題が残されており, 先づ欧米において分離した菌株と, 日本のそれとを比較検討する必要がある。かゝる見地から著者は慶大泌尿器科, 産婦人科に於て, 男女性器路から分離した PPLO 15株について Pennsylvania 大学より分與をうけた PPLO の中の代表的なものとして Campo 株 (非淋菌性尿道炎から分離) O7株 (女子頸管から分離) の2株を選び, これらの家兎免疫血清を中心として, 血清学的並びに生物学的性状について検討したので報告する。

I 生物学的性状

A) 糖分解能
使用菌株

- a) Campo, 07株, 計2株
- b) 藤波, 北條株 (男子尿道から分離) 計2株
- c) No. 1, 矢部, 高橋, No. 13, No. 132, No. 120, No. 125, No. 130, SM, S, 平林 (女子頸管から分離)

計11株

実験方法

10%馬血清を supplement とせる 固型培地の平板上に37°C 3日間培養の PPLO の液体培養の 0.1ml をコンラージ棒にて十分に平板全面を覆う様に擴げ, 更に37°C 3日培養を行つて固型培地表面に PPLO の多数の集落を生ぜしめる。次で, glucose, lactose, maltose, rhamnose, dultitol, mannose, dextrin を夫々1%加半流動培地となし, それに指示薬として 0.004% phenol red を加えたるものを, PPLO が充分に發育している固型培地上に全面を覆う如く重層する。半流動培地の凝固を待つて, 孵卵器におさめ, 更に37°C 3日置き, phenol red の色調の変化を以つて糖分解の有無を判定した。

実験成績

第1表に示す如く, glucose, galactose の2種の糖に対しては, 実験に用いた PPLO の15菌株すべてが程

度の差はあるがいずれも分解しているのに比し, lactose, dultitol, dextrin は全株とも全く分解を認めていない。又 mannose に対しては高橋株は非分解, 矢部株は分解はするが程度が弱かつたが, その他の菌株ではすべて分解を認めている。maltose に対しては No. 120, 07, No. 125, No. 1 及び高橋株は軽度ながら分解を認めたが, 他の10株は全て陰性であつた。又 rhamnose に対しては No. 13, No. 132, SM, 平林及びS株では非分解, No. 120, No. 1, 北條, 矢部, No. 130では軽度に分解を認めた。

B) 薬剤感受性

使用した菌株は前実験と同様で, 使用した培地は PPLO 寒天 (Difco) であつた。

supplement として15%馬血液及び10%牛 albumin 及び5% yeast extract を加え, 同時に目的とする抗生物質を所要量 (第2表参照) 加え充分混和し, 平板として用いた。被檢株は予じめ固型培地上に3日培養し, その集落の1白金耳をとり, 被檢物を種々の濃度に加へたる培地に塗布, 37°C 3日培養後低倍率顯微鏡を用いて集落数を算定した。

実験成績

第2表に示す如く, PPLO は penicillin に対し極めて抵抗性が強く, 大部分のもの (12株) は 10,000 μ /ml 以上迄發育を認めた。しかし矢部, 藤波, No. 13, の3株は 10,000 μ /ml では發育せず, 5,000 μ /ml で僅かに發育が認められ, それ以下 100 μ /ml までほぼ同程度の弱い發育が見られた。この点は欧米における報告と少しく不一致の点である。

aureomycin に対しては11株は1 γ /ml で發育し10.0 γ /ml で阻止されたが, 北條, 高橋, No. 1, 及びNo. 125の4株は1 γ /ml でも發育せず, 07, Campo よりも感受性が高かつた。

chloramphenicol に対しては Campo, 07は1 γ /ml で發育が阻止されたが, 新分離株の大部分 (9株) は1 γ /ml で良く發育し, 特に No. 13及び矢部株は10 γ /ml でも發育を示した。

streptomycin に対しては Campo, 07株は1 γ /ml まで發育し, 10 γ /ml で阻止されたが, 藤波, No. 13株は1 γ /ml で阻止され, 更に高橋, 矢部株は0.1 γ /ml でも阻止せられ, 0.01 γ /ml で始めて發育が認められた。他方 No. 120, No. 132, No. 130, 及び SM の4株はより抵抗性で10 γ /ml でも發育し, 100 γ /ml で阻止された。

tetramycin に対しては被檢株は全て一様に感受性を

Table I Fermentation

	GLUCOSE	GALACTOSE	MANNOSE	DULCITOL	DEXTRIN	LACTOSE	MALTOSE	RHAMNOSE
No. 120	++	++	+	—	—	—	±	±
07	+	+	++	—	—	—	±	+
No. 125	++	++	++	—	—	—	±	+
No. 1	+	++	+	—	—	—	±	±
Takahashi	+	*	—	—	—	—	±	*
Hojo	+	++	++	—	—	—	—	±
Campo	±	+	++	—	—	—	—	+
Fujinami	±	++	++	—	—	—	—	+
Yabe	+	+	±	—	—	—	—	±
No. 130	+	++	++	—	—	—	—	±
No. 13	+	++	+	—	—	—	—	—
No. 132	+	++	+	—	—	—	—	—
SM	+	+	+	—	—	—	—	—
Hirabayasi	++	+	±	—	—	—	—	—
S	+	+	+	—	—	—	—	—

Table II. Susceptibility of antibiotics

		Campo	07	Hojo	Takahashi	No. 1	No. 125	S	Hirabayasi	No. 120	No. 132	No. 130	SM	Fujinami	No. 13	Yabe
PC	10,000	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	—	—	—
	5,000	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	+	+	+
	1,000	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	+	+	+
	100	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	+	+	+
	10	≡	≡	≡	•	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	+	+
AM	1,000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	500	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	1	≡	+	—	—	—	—	+	+	+	≡	≡	≡	+	+	+
CM	1,000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	500	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
	1	—	—	—	•	•	+	≡	≡	—	≡	≡	≡	+	+	+
SM	100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	10	—	—	—	—	—	—	—	—	≡	≡	≡	≡	—	—	—
	1	≡	+	+	—	≡	+	+	+	≡	≡	≡	≡	—	—	—
	0.1	≡	+	•	—	≡	+	+	+	•	•	•	≡	+	+	—
	0.01	≡	≡	+	≡	≡	≡	+	+	≡	≡	≡	≡	+	+	+
TM	100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	1	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.1	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡
	0.01	≡	≡	≡	•	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡
CONT		≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡

示し、Campo, 07株は10γ/ml で発育が阻止されたが、新分離株は1 γ/ml で阻止された。

thallium acetate 及び crystal violet に対する成績は第3表に示した。即ち Campo, 07株は thallium の0.1%添加によつても尚発育可能であり、それとほぼ同程度の発育を示したものは高橋, No. 13, 藤波, No. 120, No. 1, No. 125, SM の7株であつた。No. 130, No. 132, 平林株はこれらより抵抗性が強く、0.1%に於ても対照と同程度の発育を示したが、矢部株は非常に感受性が大きく、0.0001%で発育は阻止された。

crystal violet に対しては Campo, 07は大体同程度の発育を示し、0.01%に添加しても発育が認められた。しかし新分離株は全く感受性が高く、高橋, No. 1, No. 13, 藤波の4株は0.01%で、又 No. 120, No. 130,

No. 132, No. 125, SM 及び矢部の6株は 0.001γ/ml で、更に平林, Sの2株は0.00001 γ/ml で夫々発育が阻止された。

II 血清学的性状の検討

(1) 凝集反應

使用菌株

- a) 標準株として Campo 株, 07株の2株
- b) 男子尿道から分離せるものとして藤波株1株
- c) 女子頸管 から分離せるものとして, No. 1, 矢部, 高橋, No. 11株の4株

家兔免疫方法

固型培地に37℃ 3日間 Campo 株及び07株を夫々好氣性に培養し、この寒天の1片(約1cm角)を10%牛albumin 及び5% yeast extract を supplement と

Table Ⅲ. Susceptibility of Thallium acetate and crystal violet

		CAMPO	07	Takahashi	No. 1	No. 13	Fujinami	No. 120	No. 130	No. 132	No. 125	SM	Yabe	Hirabayasi	S
THALLIUM ACETATE	0.1 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+
	0.01	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+
	0.001	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+
	0.0001	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+
	0.00001	+	+	*	*	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CRYSTAL VIOLET	0.01	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.001	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.0001	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
	0.00001	+	+	+	+	+	+	*	*	*	+	*	+	—	—
	0.000001	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CONTROL	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Table Ⅳ. Agglutination

Anti Serum	CAMPO										
Dilution	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	CONT.
Strain											
CAMPO	+	+	+	++	++	+++	++	+	—	—	—
07	+++	+	+	++	+	+	+	+	—	—	—
Takahashi	+++	+++	+++	++	+	+	—	—	—	—	—
Yabe	++	++	++	+	+	+	—	—	—	—	—
No. 11	+++	+++	+++	++	+	+	—	—	—	—	—
Fujinami	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
No. 1	+++	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—

Anti serum	07										
Dilution	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	CONT.
Strain											
CAMPO	+++	+++	+	+	—	—	—	—	—	—	—
07	+++	+++	+	+	—	—	—	—	—	—	—
Takahashi	+++	+++	++	++	+	—	—	—	—	—	—
Yabe	++	++	+	+	+	—	—	—	—	—	—
No. 11	+++	+++	*	*	—	—	—	—	—	—	—
Fujinami	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
No. 1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

せる液体培地 4 ml に投入し、これを37℃ 3 日培養後、4,000 r.p.m 20分間遠心沈澱を行い、沈渣を 1 ml の液体培地に再浮遊せしめたものを抗原とした。その 0.5 ml を 4 日間隔に 6 回耳静脈から経静脈性に接種し、その後型の如く採血して血清を分離し、非動化56℃30分行

い実験に使用した。
抗原作製法
Campo, 07, No. 11, No. 1, 矢部及び藤波株計 6 株を使用した。その方法は家兎免疫の際と同様で、固型培地に37℃ 3 日間好気性に培養し、その寒天の 1 片を10%

牛 albumin 及び 5% yeast extract を supplement とせる液体培地 4 ml に投入し、37°C 3 日間培養した後、冷凍遠心器にて 14,000 r.p.m 20 分間遠心沈澱する。多量に PPLO の生菌を含有する沈澱を 2 ml の液体培地に再浮遊せしめ、これを凝集反應用の抗原として使用した。

実験方法

凝集管に 0.5ml づつ生理的食塩水を分注し、この第 1 管に抗血清 0.5ml を加えて以後倍数稀釋を行い、8192 倍迄稀釋した。之等各管に抗原を 0.5ml づつ加え、混釋、靜かに振盪する。対照には血清を加えず、食塩水 0.5ml に抗原を加えたものを使用した。これを 24 時間 37°C 孵卵器内に放置せる後 agglutinoskope を用いて凝集價を測定した。

実験成績

第 4 表に示す如く Campo, 07 家兎免疫血清を用いて行つた実験では homologous の凝集反應が認められた。この凝集は細く、凝集が著明な場合には肉眼にても明らかに認めることができる。Campo の場合で特徴的な事は、所謂 Zone phenomenon の状態が認められた事である。次に Campo, 07 間における heterogous の反應を観察すると、07 血清に対し 07 抗原は 512 倍迄の凝集反應をみると、Campo, 07 菌株間の凝集反應に cross reaction の存在することが認められた。又 Campo, 07 血清を用いて、慶大で分離した 5 株の PPLO による凝集反應をみると、No. 11 株は Campo 血清に 128 倍、07 血清には 8 倍（16 倍、32 倍稀釋は不明）迄陽性であり、更に矢部、高橋株は Campo 血清には 128 倍、07 血清に対しては 64 倍迄陽性であつて、これら 3 株の血清学的類似性が示されていた。これに比して No. 1 株は Campo 血清に対しては 16 倍稀釋迄凝集反應を認めるが、07 血清に対しては全く反應を認めず、又藤波株は Campo, 07 兩血清に凝集反應をみとめるが、反應は比較的弱く、共に 16 倍稀釋迄の陽性しか示さなかつた。

(2) 補体結合反應

使用菌株

- a) Campo, 07 株の 2 株
 - b) 藤波、北條株（男子尿道から分離）の 2 株
 - c) No. 1, 矢部、高橋, No. 13, No. 132, No. 120, No. 125, No. 130 株（女子頸管から分離）の 8 株
- 抗原作製法
多量の抗原を得る必要上次の方法を用いた。
supplement として 10% albumin 及び 5% yeast

extract を加えた固型培地 100ml を Roux 培養瓶に流して斜面として凝固せしめる。これに同じく 10% albumin と 5% yeast extract を supplement とした液体培地の 50ml を加えておく。次に培養 3 日の PPLO が充分に發育している平板から集落の全部をかきとつて 5 ml の液体培地に浮遊させ、これを Roux 培養瓶中の液体培地に投入し、Roux 培養瓶を寝かせ、固型培地の表面全部が液体培地により覆われる様にして、37°C 3 日培養を行つた。この様にすると PPLO は液体培地内に充分發育すると共に固型培地表面にも多数の集落をつくる。この液体培地に固型培地の集落を全部かきとり、これによつて濃厚菌液を得ることができる。この菌液を 4,000 r.p.m 20 分間遠心沈澱して上清をすて、沈澱を生食水に再浮遊して再遠心し、これを 2 回繰返して十分に洗滌せる後、沈澱を 10ml 生理的食塩水に浮遊せしめたものを抗原の原液とした。

実験方法

抗原減量法を用いた。即ち家兎免疫血清を生食水にて 10 倍に稀釋し、これを 0.25ml づつ小試験管に分注したる後、新鮮補体を 0.25ml 添加する。次に抗原の原液並びに 10 倍、100 倍、1000 倍に稀釋せる抗原各 0.25ml を添加し、更に山羊血球液 0.25ml を添加したる後に 56°C 30 分放置して溶血の値を判定した。

実験成績

第 5 表に示す如く Campo 株は homologous の場合に血清稀釋 10 倍迄陽性を示し、07 抗血清に対しても、これと同様の態度を示したが、藤波抗血清に対しては 100 倍稀釋迄陽性を示した。藤波、北條, No. 1 株は夫々程度の差はあるがほぼ同様の成績を示し、更に又 No. 125, No. 132, の兩株は前者より反應は弱いが陽性の成績を得た。

これら 6 株は程度の差はあれ、用いた 4 種の抗血清全てに陽性の態度を示した。

これに比して 07 株は homologous の場合に 10 倍稀釋までであるが、比較的強い反應を示し、更に heterogous の場合に Campo 抗血清に対し原液で強い反應を示したが、藤波, No. 1, 抗血清に対しては全く反應せず、他のものと明らかに区別された。

この 2 つの group の中間に位する菌株がある。即ち No. 13 株は、Campo, 07 兩抗血清に対しては弱い陽性を示し、No. 1 抗血清には全く反應しない。

高橋、矢部, No. 120 の 3 株は他と同様に Campo, 07 抗血清には夫々強く反應し、No. 1 抗血清には弱く反應

Campo Strain 72 hours culture

Fujinami Strain 72 hours culture

No. 13 Strain 72 hours culture

SM Strain 72 hours culture

Fujinami Strain 49 hours culture

SM Strain Electron mikroskop Photograph
2,5000×

Table V. Complement Fixation Test

Type		I						II	III			IV	
Antiserum	Strain	CAMPO	Fujinami	Hojo	No. 1	No. 125	No. 132	No. 13	Takahashi	Yabe	No. 120	07	No. 130
CAMPO	1	≡	≡	≡	≡	+	+	≡	≡	+	≡	≡	≡
	2	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	4	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
07	1	≡	≡	≡	≡	+	+	≡	≡	≡	≡	≡	+
	2	—	—	—	—	—	—	≡	+	—	—	+	—
	3	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	4	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Fujinami	1	+	≡	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
	2	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
No. 1	1	+	≡	+	+	+	+	—	+	+	+	—	—
	2	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	3	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

するが、藤波抗血清に対しては全く反応しなかった。

考 按

PPLO の生物学的性状の1つとして、糖分解能は幾人かの研究者に取上げられて来た。1935年 Tang, Wei, McWirtter & Edgar¹⁾ は *Asterococcus bovis* の糖分解を行っているのを始め、1942年 Warren²⁾ は pleuropneumonia group の糖分解を行つて、実験に用いられた PPLO の菌株がすべて glucose を分解したことを報告している。又1936年 Laidlaw & Elford³⁾ は下水汚物から分離した saparophytic の菌株の糖分解を行つたが、之等の株の糖分解能は全く見出せなかつたと報告している。之に反して1950年 Edward⁴⁾ は *Asterococcus bovis* を始め、下水汚物、rat, mouse 等の齧齒類から分離した PPLO 並びに人及び牛の性器路より分離した PPLO の株について糖分解を行っている。この際以前に Laidlaw 及び Elford³⁾ が施行した saprophytic の菌株の糖分解を行つており、之等の株が glucose, maltose, fructose, dextrin, starch, glycogen を分解したことを認めている。然しながら女子頸管から分離した株は全く糖分解能を認め得なかつたと報告している。

今回著者が得た成績から見るに glucose, galactose

に対してはすべての株に共通した糖分解能を有する事は明らかである。よつて、これを maltose, rhamnose の糖分解能により分類すると、次の3つの group に分けることができる。即ち、第1の group は rhamnose を分解し、maltose 非分解（北條, Campo, 藤波, 矢部, No. 130株）の group, 第2の group は rhamnose, maltose 分解（No. 120, 07, No. 125, No. 1株, 高橋株）の group, 第3の group は rhamnose, maltose 非分解（No. 13, No. 132, SM, 平林, 8株）の group の3つの group である。又男子尿道から分離した株（Campo, 藤波, 北條株）はすべて第2の group に屬せしめることが認められた。更に mannose に関しては矢部株は分解能が弱く、その点高橋株との類似性を予測させた。又糖分解能に関し No. 120株は、高橋株と同一の成績を示し、これら3者（矢部, 高橋, No. 120）の間に何等かの近似性が示唆された。

薬剤感受性の問題は、先づ抗生物質に対する成績から眺めてみるに、先づ penicillin に対し、比較的感受性のあつた藤波, 矢部, No. 13の3株の存在が注意を引く処で、この中 No. 13, 矢部の2株は Campo, 07に比し、Chloramphenicol に抵抗性であり、streptomycin

に対しては3株とも、より感受性である。同様に aureomycin に対し北條, 高橋, No. 1, No. 125等は Campo, 07に比してより感受性であり, 又高橋株は streptomycin に対しても感受性であり, 更に terramycin に対しては全株共に感受性であることは興味深い。即ちわが國に分布している菌株は, 抗生物質感受性という点では欧米のそれとやゝ態度が異なっているのは, 如何なる理由に基くものであろうか, 微生物の薬剤耐性は, その臨床的使用頻度に應じて高くなる事は staphylococcus, 結核菌, 赤痢菌等その例が多く, PPLO もその範疇に入ることであろうが, 今回得た成績がその様な原因のみに基くものであろうか。或はもつと根本的な理由に基くものであろうか。例えば salmonella や pneumococcus のL型菌は penicillin に対し比較的低濃度で阻止される事が知られているが, 若し PPLO とL型菌とが本質的に同一のものであるならば, 今回の成績の如く, 種々なる感受性の PPLO が存在しても不思議はない。その意味からはわが國の PPLO の分布は独得のものかも知れない。

又 thallium acetate に対しても矢部の如き感受性株から No. 130, No. 132の如き抵抗性株まで, 種々のものが存在した事も同様の理由から興味もたれる。

Crystal violet に対しては, 標準株より全ての新分離株が感受性であつたが, この点はすでに Morton 等が予測した処で, 平林, Sの如き感受性株があるから, 新分離を目的として培地に添加する場合には充分な注意が必要となつてくる。

又, 例外はあるが, streptomycin 抵抗性株は多くは thallium 抵抗性であり, その反対に Crystal violet 感受性の傾向を示した事は将来尚検討を加える必要がある。

血清学的性状及び免疫学的性状に関しては幾つかの報告がある。例えば1938年 Klieneberger⁵⁾ は PPLO を以つて家兎免疫を行い, その抗血清中に接種した菌に対して特異的に働く凝集反應を観察している。又凝集反應の Cross reaction については, 明らかに之を認め得るもの, 及び全く認め得ないもののあることを記述している。Klieneberger の行つた実験の結果では PPLO の16菌種が, 7種類の血清学的 Type を有つ事を明らかにしている。更に1940年 Klieneberger⁶⁾ は Laidlaw & Elford³⁾ が下水汚物から分離した PPLO の菌株, 並びに Seiffert^{7,8)} が土壌より分離した PPLO の菌種である。所謂 saprophyte の株について凝集反應を行つ

ている。そして seiffert^{7,8)} の分離した株及び Laidlaw 及び Elford³⁾ により分離された Type A との株の間には血清学的に密接な関係のあることを述べている。然しながら Laidlaw 及び Elford³⁾ が分離した Type B の株は血清学的に Type A とやゝ相違しており, 更に Type C の株は, Type A 及び Type B のいづれにも相違しており, 全く異なる特異的なものと做されると述べている。又1942年 Warren²⁾ は人の頸管から分離した PPLO の No. 4330の菌株について家兎免疫血清を作製し, マウスから分離した PPLO の Type A.B.C. D.E. 並びに rat から分離した L₃, L₄ 菌株との間で凝集反應を行つてゐるが, すべて陰性であり, 人から分離した PPLO は齧齒類から分離された PPLO との間に血清学的関係のないことを認めている。1939年 Sabin⁹⁾ はマウスの呼吸器路より, 血清学的並びに病原性状に於ても異なる PPLO を発見している。1950年に至り Edward¹³⁾ は牛の性器路より P及びS株を分離している。この2つの菌種は非常に相違を認め, P株は supplement として血清等の蛋白体を必要とする。之に反してS株は supplement のない培地にも充分なる發育が認められ, 血清学的にも全く相違を認められている。S株は Elford³⁾, Seiffert^{7,8)} 等が分離した saprophyte の菌株に類似が求められている。補体結合反應については1946年 Beveridge, Campbell, Lind¹⁰⁾ が PPLO を分離せる非特異性尿道炎患者 128人の血清中より79人に補体結合抗体を証明し, 同年 Wallerstein, Valee, Turner¹¹⁾ も Reiter's disease の2例に陽性結果を得ている。之に反して1948年 Harkness 及び Henderson-Begg¹²⁾ は非特異性尿道炎患者の補体結合反應及び凝集反應のいづれにも失敗している。又1950年 Edward¹³⁾ はP及びS株にて抗血清をつくり, 凝集反應並びに補体結合反應を行つてゐるが, この2種類の反應の間では同じ菌株間に於ても, 反應の強さは同一でないことを認めている。更に Edward & Fitzgerald¹⁴⁾ は免疫血清中に PPLO の發育を抑制する抗体の存在を証明して居り, この作用は補体の存在に左右されない特異的なものであり, 更に細菌に由来するL型においてもその免疫血清が發育を抑制することを認めている。即ち streptobacillus moniliformis の L-phase にて免疫した抗血清は, その L-phase は勿論, その原株の streptobacillus moniliformis の發育も抑制せられることを認めている。Edward & Fitzgerald¹⁴⁾ は之の研究の中で, 1952年に Priestley¹⁵⁾ が牛肺疫の牛の血清中に Asterococcus mycoides の發育を阻止する物質の存在することを指摘している。

が、これは補体の作用を必要としており、發育を抑制する物質とは相違するものであつて、所謂抗体の bactericidal な bacteriolytic の作用に屬するものであると論じている。

今回著者の得た成績を纏めてみるに、凝集反應では Campo 株は homologous の時は 512 倍稀釋まで陽性を示したが、一般にその凝集價は低い傾向にあり、又 heterologous における凝集反應に cross reaction が存在し、Campo 血清に対して 07 株は最高 512 倍迄陽性を示し、更に 07 血清に対しては 07 株が 32 倍陽性を示すのに比して、高橋、矢部はこれを上廻り 64 倍稀釋迄凝集が認められた。即ち Campo, 07 株の如く、いづれも Campo 抗血清に強く、07 抗血清に弱く反應するものがある。又、高橋、矢部株の様に、兩血清に夫々同程度に反應するものがあり、恐らくは No. 11 株もこれらと類似の態度を示す様にも思われるが、07 抗血清の 32 倍、64 倍の成績が得られていないので決定的なことは言えない。次に藤波株は兩抗血清に対し極めて弱い反應を示し、更に No. 1 株は 07 抗血清と反應を示さなかつた。これらの菌株間に、果してどこで區別をつけるべきかは明らかにされませんが、夫々の菌株により異なる態度を示すものがあることは事実で、それが單に量的の差異であるか、或は質的な差異であるかは、更に抗血清の種類を増し、吸収試験を行わねばなるまいが、今回は、大方の動向を求めるに止めた。補体結合反應に於ては homologous の場合には、全て陽性の成績を示した。又、heterologous の場合にも廣範囲に陽性の成績を得たが、いづれの場合にも抗体價は低く、血清稀釋 100 倍に於て陽性を示したものは No. 1 抗血清対 Campo の組合せのみで、他は全て 10 倍以下であつた。Campo, 07 の兩血清に対しては、被檢株の全てが陽性の反應を示したが、藤波、及び No. 1 抗血清に対しては種々なる成績を示し、これらを纏めると、明らかに 4 つの group に分けることが出来た。即ち Campo, No. 1, 藤波, No. 125, No. 132 及び北條の 6 株 (I 型と假称) するは夫々用いた 4 種の抗血清の全てと陽性の反應を示し、又男子尿道由来の 3 株 (Campo, 藤波, 北條) 全てが此の型に屬していた。

No. 13 株は (II 型と假称する) は Campo, 07, 藤波の 3 血清には陽性の反應が認められたが No. 1 抗血清に対しては全く反應せず、前型と一應區別した。

高橋、矢部, No. 120 の 3 株 (III 型と假称する) は Campo, 07 及び No. 1 抗血清に夫々陽性の反應を示すが、藤波抗血清には全く反應せず、前 2 型と異なる態度

を示した。又、高橋、矢部の 2 株は凝集反應に於ても類似の性質を示していたことは興味がある。

07 及び No. 130 株は前 3 者とも異なり、Campo, 07 抗血清には陽性の反應を示すが、藤波, No. 1, 抗血清に対しては全く反應は陰性であつた。

かくの如く成績を纏めてみると、凝集反應と補体結合反應の成績は可成り一致点が多くなる。即ち No. 11 株は恐らく高橋、矢部株の group に屬していて、若し補体結合反應を行えば III 型に分類される可能性がある。

又 No. 1 株は凝集反應では Campo 抗血清には反應するも、07 抗血清には全く反應しなかつた。しかるに、これを補体結合反應から見ればこの兩血清に同程度の反應を示しており、藤波株と同様に Campo, 07 株に対する共通抗原を有するものと考えられる。しかしこの藤波, No. 1 株も、II 型又は III 型菌を用いれば明らかに區別されるべきものである。又、Campo, 07 株は、相互の間に組合された凝集反應上からも、補体結合反應上からも全く類似の成績を示したが、藤波, No. 1 抗血清を用いる事により明らかに區別し得た事實は注目すべきである。

以上の成績を通覽して感ぜられる事は、使用した 16 種の各菌株について、糖分解、凝集反應、補体結合反應の 3 者を行ひ得たのは 6 株、補体結合反應及び糖分解の検査の出来たものは 6 株で、従つて、これらの諸検査の成績のみから決定的な結果を求める事に困難がある。それは菌株の保存の困難性に基くもので止むを得ないとは云え残念な事である。

又、使用した免疫血清も 4 種類に限られたのも同様の理由からであるが、この血清の種類を増して更に検討を加える必要もあろう。

しかしながら Pennsylvania 学派の標準株とも云うべき 07, Campo の兩株が糖分解能から異なる group に分けられ、更に又藤波株及び No. 1 株抗血清を用いた補体結合反應により明らかに區別された事は興味がある。

更に又、高橋、矢部, No. 120 株等からなる 1 群のものが新たに見出され、しかも可成りな頻度に分離されることは、日本に於ける PPLO の分布が特殊なものである事を示唆するものとして注目すべきである。即ち、欧米に於て分離された多くの菌株は色々の点で共通性があり、1953 年 Nicol & Edward⁽¹⁶⁾ が London, Paris 及び米國で分離したものは血清学的に関連性が深く、亦生物学的には London で分離した 91 株中 90 株は同一の性状を有していた。又 Paris で分離した 2 株は米國の株

と同様の性状を示した事を報じており、かかる意味からも著者がⅢ型と假称した新しい菌群の存在は殊に興味深いものがある。

結 論

1. わが國に於ける PPLO の正常分布を知るために先づ日本に於ける新分離株15株を、米國の代表株, Campo, 及び07の2株と比較した。

2. 糖分解能については, No. 13, No. 132, SM, 平林及びSの5株は異なる態度を示した。

3. 抗生物質感受性については可成りの差異が認められ、藤波、矢部、No. 13の3株は Penicillin に感受性である点で異なるのみならず、Chloramphenicol, streptomycin にも異なる態度を示した。

4. thallium acetate 及び Crystal violet に対しては、矢部、No. 130, No. 132, SM, 平林、Sの6株は異なる成績を示した。

5. 補体結合反應から、使用株は4つの型に分けられ、対照とした米國株と異なる抗原構造を有するⅢ型が、比較的によく見出された。

6. 以上のことから日本に於ては米國及びヨーロッパ地域と異なる性状の PPLO が分布していることが推測された。

擧筆するにあたり、恩師田村教授をはじめ、細菌学教室牛場教授並びに直接御指導を頂いた佐々木助教授に厚く御礼申上げる。

主要文献

- 1) Tang, F.F., Wei, H., Mcwirtinger, D.L. & Edgar, J.: J. Path. Bact., 40, 391, 1935.
- 2) Warren, J.: J. Bact., 43, 211, 1942.
- 3) Laidlaw, P.P. & Elford, W.J.: Proc. Roy. Soc. B., 120, 292, 1936.
- 4) Edward, D.G.: J. Gen. Microbiol., 4, 311, 1950.
- 5) Klieneberger, E.: J. Hgg. Camb., 38, 458, 1938.
- 6) Klieneberger, E.: J. Hgg. Camb., 40, 204, 1940.
- 7) Seiffert, G.: Zbl. Bakt., 139, 337, 1937.
- 8) Seiffert, G.: Zbl. Bakt., 140, 168, 1937.
- 9) Sabin, A.B.: Science, 90, 18, 1939.
- 10) Beveridge, W.I.B., Campbell, A.D. & Lind, P.E.: Med. J. Aust., I, 179, 1946.
- 11) Wallerstein, R., Vallee, B. & Turner, L.: J. Infect. Dis., 79, 134, 1946.
- 12) Harkness, A.H. & Henderson-Begg, A.: Brit. J. Vener. Dis., 24, 50, 1948.
- 13) Edward, D.G.: J. Gen. Microbiol., 4, 4, 1950.
- 14) Edward, D.G. & Fitzgerald, W.A.: J. Path. Bact., 68, 23, 1954.
- 15) Priestley, F.W. & White, R.W.: Brit. Vet. J., 108, 153, 1952.
- 16) Nicol, C.S. & Edward, D.G.: Brit. J. Vener. Dis., 29, 141, 1953.