Streptobacillus moniliformis 脳炎の研究

第1報 マウスからの Streptobacillus moniliformis の分離

大 久 保 つ る

北里研究所 ウィルス・リケッチア部 (部長笠原四郎)

〔受付: 3月1日 1956年〕

I. 緒 言

Streptobacillus moniliformis (Levaditi, Nicolau et Poincloux, 1925) の同意語としては, *Streptothrix muris ratti* (Schottmüller, 1914) *Actinomyces muris* (Wilson and Miles) がある。

この菌は, 最初ドイツにおいて鼠咬を受けた患者血液から分離されたが (Schottmüller, 1914), 其の後, フランスで発熱・咽頭痛・発疹・多発性関節炎を示したリユーマチ熱様患者血液から (Levaditi et al), 又アメリカで Haverhill 熱 (Erythema arthriticum epidemicum) の患者血液から (Parker and Hudson 1926) 分離培養された。イギリスでは, Strangways (1933) が *Trypanosoma equiperdum* 感染マウスから, この菌を分離し, これは鼠の鼻咽腔における常在菌であると言った。

かくして, *Streptobacillus moniliformis* (以下 St. m. と略す。) は, 住家性の鼠が保有して居るが, 人にも病原性がある, 一種の鼠咬症や, リユーマチ様疾患を起すことが明にされた。

日本においては, St. m. の研究は極めて少い。笠原四郎博士は, かつて満洲において流行性出血熱患者血液をマウス (岐阜県下の動物商より納入された) 腹腔内に注射後, 赤い尿をもらして発症致死するものを発見し, その脾, 肝の血液寒天 37°C 孵卵器内 4 日間培養によって, 微小水滴様の菌集落を認め, この菌が St. m. であると同定した (1942)。この菌株についての生物学的, 形態学的研究は, かなり詳細に行われた (笠原・作山元治・金沢謙一) が, 発表の機会を失った。

神戸衛生研究所において発疹熱マウス継代中, 赤尿を排泄してマウスが死亡し始めリケッチアの継代が危くなつたが, その原因が不明であつた。偶々同所囑託であつた作山氏からこの菌が St. m. であろうとの助言によつて, これを確認し更にドブ鼠からもこれを分離培養し (鈴木敏雄 1944) 本菌の細菌学的研究は本誌に発表され

た。

著者は各種のウィルス, リケッチアのマウス累代接種による分離試験実施中, 脳内接種の場合には脳炎・脳膜炎症状を呈し, 腹腔内接種の場合には腹膜炎を起し, 一見したところ所期のウイルスを分離し得たと思つたことさえあつた。それは感染マウスの脾, 肝, 脳の諸臓器は普通ブイヨン, 普通寒天の 37°C, 2 日間培養では, 細菌集落を認め得ず, 諸臓器及び腹腔腔浸出物の塗抹標本上で, (少くとも St. m. を知らなければ) 無菌と判定されたからである。然し, これらの発病因子は, 実は非常に多型性であり, 濾過性さえも示し, 普通ブイヨン, 普通寒天には培養出来ぬ菌, St. m. であつたのである。

更に, 既に保存ウィルス株及び保存リケッチアのマウス継代中にも, 又動物商が納入直後で, 何等の操作を施さない外観上全く健康なマウスからも, St. m. を分離し得た。

St. m. はマウス動物実験の場合には, これが迷入する場合が多い事を警告したいので, ここに報告する。

II. 実験成績

A. 泉熱ウィルス分離試験中に分離した St. m.

泉熱のマウス脳内累代接種によるウィルス分離の試みは, 笠原研究室において既に 1949 年来, 数人の研究室員に依つて時を異にして多大の努力を払つて居るが, 未だ陽性成績を得ていない。しかし, 北岡, 前田は 1950 年に 1 種の向神経性ウィルスを得て, これを泉熱に関係ありと報告したので, 著者も泉熱のマウス脳内累代接種 (時に腹腔内同時接種) を再度試みた。

1. 実験方法

マウス初代接種: 1950年 4~12月

OKUBO Tsuru: Studies on the *Streptobacillus moniliformis* Encephalitis. I. Isolation of *Streptobacillus moniliformis* from mice. The Kitasato Institute for Infectious Disease. —Jap. J. of Bact., 11(6), 539-543, 1956.

第1表 Streptobacillus moniliformis 分離

No.	分離継代病毒	St. m. 株 名	接 種			発 症 代数・部位	分離培養*
			材 料	年 月 日	cc・部位		
1	泉 熱	小 関**	尿 L ₂	50.12.15	0.02 ic 0.25 ip	2 ic・ip—3 ip	6 G. N. L
2	"	笠原 H ₁	尿	" 12.19	0.01 ic	2 ic	5 G
3	"	笠原 B	血 液	" " "	0.25 ip	4 ip	5 H. B.
4	"	笠原 H ₂	尿	" " 24	0.02 ic 0.2 ip	1 ic・ip—1 ic	3 G, 5 L
5	新 マ ウ ス	B 21		51. 1.19	未 接 種		G
6	"	E 14		52. 4.12	"		M
7	HST	D 71		52. 4.24	0.02 ic		G
8	日 脳 中 山 株	143 G		52. 4.30	0.02 ic		G
9	新 マ ウ ス	13 G		52. 5. 1	未 接 種		"
10	"	A 6		" 5.23	"		"
11	日 脳 中 山 株	206 G		52. 6. 9	0.02 ic		G
12	誘 発 試 験		NaCl	52. 7.11	0.03 ic	1 ic	"
13	恙 虫 病	J 24**		55. 6. 2	0.25 ip	2 ip	"

註 * 数字は分離代数 G; 脳 M; 脾 N; 腎 L; 肝 H. B.; 心血の略 ** 株現存

患者材料： 泉熱患者4名の尿3, 血液3, 糞便1

実験動物： 動物商から買入れた雑系マウス, 体重5~10g, 飼育地は主として埼玉県粕壁地区である。

接種材料及接種部位： ヘパリン血液は脳内に0.02cc, クエン酸曹達加血液は, 初代マウスには腹腔内に0.2~0.5cc, 尿は採尿後3時間以内にマウス脳内に0.01cc, 腹腔内に0.2ccを接種した。糞便は10%乳剤(生理的食塩水)として普通遠心器にかけた上清の Chamberland L₂ 濾液0.02cc 脳内に, 0.25cc を腹腔内に接種した。接種後症状を観察し, 若し症状あれば発症後1~4日その経過を観察後, クロロホルムで殺した。症状を認めぬ時は接種後5~10日で殺した。2代からは脳内接種マウスでは脳乳剤, 腹腔内接種のマウスでは脾, 肝, 腎の10%乳剤が次代に注射された。

無菌試験： 脳・肝・脾・腎の一片を普通ブイヨン・普通寒天に37°C, 1~2日培養した。St. m 感染が疑われてからは, 血清寒天・血液寒天・Löffler 培地が使用された。

脳と腹膜擦染標本を作り, メタノール固定ギムザ染色又は Pfeiffer 液で染色鏡検した。

2. 分離試験

泉熱材料接種マウスからは4系統の St. m. を分離培養した(第1表)。

紙面の都合上, 小関系と笠原系マウス接種系統図(第1, 2図)を掲げておく。

小関株： 泉熱患者小関(17歳, 男), 第7病日, 体温40°Cの時の糞便ブイヨン10%乳剤の遠心上清(1分間3000回転, 10分間)の Chamberland L₂ 濾液0.02ccを脳内に, 0.25ccを腹腔内に, 体重10gのマウス3匹に接種した(1950年12月)。注射後5日にマウスは症状を認めなかったが殺した, 剖見して異常なかったが, 脳, 脾, 肝, 腎生理的食塩水10%乳剤0.02ccを脳内に, 更に0.25ccを腹腔内にマウス3匹に注射した。注射後8日迄に症状を認めなかったが殺した。剖見しても異常なかった。此の3匹のマウスの脳・脾・腎・肝10%乳剤を3代マウス2匹の腹腔内に接種した。

3代マウスの1匹は接種後9日に, 立毛, 丸背を示したので殺して, 剖見するに, 腹腔内に粘稠性腹水が多量にあり・脾・腎・肝・肺は普通寒天, 普通ブイヨンで細菌陰性であつた。腹膜からの塗抹標本では, 細菌・原虫・リケッチアを認めなかったと記載された。因みに St. m. は見逃されたものと考えられるのである。同一標本上の細胞については, リンパ球・組織球・漿液膜細胞・形質細胞を中等量に認めたが, 好中球は殆ど見られなかった。3代マウスの他の1匹は接種後10日まで発症を示さなかったが, 殺して, 脳及び腹腔臓器混合乳剤を, 4代マウス2匹の脳内及び腹腔内に注射した。

4代マウスは2匹とも注射後4日に丸背, 立毛を示し, 両後肢に不全麻痺を示し, その症状は日本脳炎ウイルスが分離される場合の初代マウスの示す症状と区別出

第1図 小 関 株

註 * 分離培養 St. m. (+)
○ は発症せず
● は発症生存
● は発症後死亡
側部の数字は発症日数を示す
ic; 脳内接種
ip; 腹腔内接種

来なかつた。しかし、発症後4日を経過しても死亡しなかつた(このような事は日本脳炎ではないことであろう)ので、殺して剖見した。脾は小さく、腎は中等度に濁腫脹し、脳には明に浮腫があつた。この脳乳剤を6匹のマウスの脳内、腹腔内に接種した。

5代マウス5匹は、接種後6日に立毛、丸背を呈し、他の1匹はその日に日本脳炎と鑑別出来ない脳炎症状を呈した。このマウスの脳をもつて次代マウス5匹に脳内接種した。

6代マウスは接種後5日に何れも前代と同様の症状を示したので、その中1匹を殺して、脳内接種側である右脳半球の一部を培養に供し、右半球の残部は7代の接種用にあて、左半球をホルマリン固定して組織標本を作つ

第2図 笠原血液株

第3図 St. m. 脳炎誘発試験
1952. 7. 11

て病理組織検索に供した。細菌培養の培地には、初めて血清寒天を使用した。3日間37°Cに培養した後、初めて水様透明の小集落を認め、細菌の形態から、これが St. m. であることが推定された。他方病理組織標本では、後日判明した St. m. 特異の脳炎所見を検出し得た。

7代マウスには前記の脳炎発症マウスの脳乳剤が脳内に注射された。注射を受けたマウス3匹中、1匹は5日に発症し、他の2匹は7日と8日に発症した。後者の脳を以つて次代に継代された。以下21代迄、脳、脳内継代接種が行われたが記載は略す。

既に記した4代マウスの他の1匹は、接種後4日に立

毛、丸背を示し、発症後3日になつて昂奮状態を示し、その翌日に両後肢の麻痺を示したので、殺した。剖見するに腎は著明に濁濁腫脹を示した。このマウスの脳を以つて5代に脳内、腹腔内接種で継代した。

5代マウス5匹中、3匹は接種後7日に発症したが、その中1匹は2日間観察後、殺して剖見した。脳の浮腫が極めて著しかった。脳を普通寒天に培養したが、細菌は検出されなかった。他の1匹は接種後7日に発症を認めた後、直ちに殺して剖見したが、腎の濁濁腫脹は顕著であつた。このマウスの腎乳剤を次代マウスの脳内に接種した。

6代マウス3匹の中1匹は、接種後5日に発症したので直ちに殺した。脳の浮腫と腎の濁濁腫脹が中等度に認められ、脳を以つて次代マウスに継代した。(以下略す)。

6代マウスの脳、肝、脾、腎をそれぞれ血液寒天に培養を試み、3日後に脳、腎より *St. m.* を分離した。他の1匹は接種後7日に立毛、丸背を示したが、症状は軽快し、注射後35日間生存した。他の1匹は8日になつて発症したので殺したが腎には著変はなかった。

笠原血液株： 泉熱患者笠原(17歳、男)、この患者は前記の小関の友人であつて小関が発病後4日で発症した。第4病日のヘパリン血液及び第4病日の尿と、第8病日の尿をマウス脳内或は腹腔内に接種して、盲継代が行われた。ここには血液系について述べて置く。

1950年12月19日、患者血液0.25cc宛を2匹のマウス腹腔内に接種した。その中1匹は接種後3日に立毛、元氣喪失後死亡した。剖見するに脾は小さく、且つ普通寒天培養上細菌は検出されなかった。このマウスの脾、肝、腎乳剤を2代マウス3匹の腹腔内に注射した。注射後16日に丸背、立毛を示したので殺した。剖見するに腎は軽度で濁濁腫脹しているほか著変なし、このマウスの脾、肝、腎10%乳剤を3代マウス2匹腹腔内接種せるも2代と同様接種後11日に軽度の丸背、立毛を示し剖見所見で著変を認めず、このマウスの脾、腎10%乳剤0.25 cc を4代マウス2匹の腹腔内に注射した。中1匹は接種後5日に発症死亡した。腎は中等度で濁濁腫脹していた。4代の他の1匹は注射後3日に発症したが、発症後2日に心血をとり、その0.2cc宛を5代マウス3匹の腹腔内に接種した。5代マウスの1匹は接種後2日に既に発症した。直ちに殺し剖見するに、脾は小さく、腎は濁濁腫脹極めて顕著であつた。このマウスの心血、脾を血液寒天に培養して *St. m.* を分離し得た、心血0.02cc を6代マウス5匹に脳内接種したところ、3匹は接種後3日に立

毛、丸背を示し、中1匹はその日に死亡、他の1匹は発症後5日に死亡した。この笠原系は9代迄心血、脳内次代接種により、顕性感染を以つて継代した(第2図)が詳細の記載は略す。

笠原系1系(第4病日の尿接種)及び同2系(第8病日の尿接種)は笠原血液系と略々同じ時期に、似た経過即ち、マウス初代~2代にて発症を認めた後、マウス3~5代で *S. m.* を培養した。

B 日本脳炎ウイルス継代中に分離した *St. m.*

日本脳炎中山株継代(A+143)代(1952年4月30日接種)及び(A+206)代(1952年6月9日接種)の典型的発症マウス脳の押捺標本で *St. m.* を鏡検したうゑに、それら脳を血清寒天に37°C、2日間培養して *St. m.* を分離し得た。

当時動物商の納入した非接種マウスからも *St. m.* を分離したことは後から述べる。

C 恙虫病リケッチア継代中に分離した *St. m.*

地方性恙虫病箱根系(J24)リケッチア5代(1955年6月2日腹腔内接種)マウスは接種後10日で殺して、剖見するに、腹腔内に粘稠性浸出物を認めたが、腎の濁濁腫脹が著しかった。このマウスの脾、肝、腎乳剤を次代マウスに接種したところ、接種後6日に発症し、リケッチア病原としては死亡までの潜伏期が早過ぎる感を受けたので、脾、肝、腎、脳を血清寒天に培養した結果、2日目に脳及び脾から *St. m.* を培養し得た。

D H S Tウイルス継代中分離した *St. m.*

浜崎教授の報告した吉田肉腫より分離したマウスH S Tウイルスを笠原研究室でマウス継代中、マウスが接種後5~10日で死亡するに至り、このマウスの脳から *St. m.* を培養した(1952年4月24日)。

E *St. m.* 分離についての小括

著者は泉熱、恙虫病或は腫瘍ウイルスのマウス継代中、マウスが脳炎症状或は全身感染の症状を現わして死亡する事を経験した。この場合、脳及び腹腔諸臓器の血清寒天培養によつて8系統の *St. m.* を分離する事が出来た。継代の病原体の種類が全く区々であることから、この *St. m.* は実験に使用したマウス由来であろうとは容易に推定されるが、これを実証するため次の実験を行った。

F 病毒非接種マウスからの *St. m.* の分離

1950年12月に実験を開始した小関株、笠原株の由来を追求する目的で、1951年1月19日に、動物商が納入後、飼育中の未接種マウスを殺して、脳及び脾、肝、腎の押捺標本を検し、かつこれらを血清寒天に培養したが、脳

からは鏡検上にも培養上からも *St. m.* を検出した。

1952年4月12日動物商が納入したマウスの中に左足抜け、右足が腫脹し、明に *St. m.* の陽性感染の症状を示すものを見出した。これを殺して、脳押捺標本上 *St. m.* を検出し、かつ脳を血清寒天に植えて、*St. m.* を分離した (E14)。前記の *St. m.* 陽性の HST 継代マウスの接種されたのは4月24日である。

おそらくこの2株はマウス間の同一流行のものと考えられる。

1952年5月1日及5月23日に未接種マウス 500余匹中に軽度の立毛、丸背、痙攣を示したマウスそれぞれ1匹宛をさがし出して、それらの脳から鏡検上 *St. m.* を認め、培養上からも *St. m.* を分離した。(Bの対照試験)

G 病毒非接種マウスにおける *St. m.* 脳炎誘発試験。

1952年7月11日、未接種マウス3匹に生理的食塩水 0.03cc宛脳内に接種し、後症状を観察するに、2匹は3日より既に軽く立毛と振せんあり、即日3匹を殺して脳押捺標本より *St. m.* を検出した。3匹の脳の混合乳剤を2代マウス4匹に接種した(第3図)、接種後3~4日より、元気喪失、立毛、丸背あり、7日より痙攣現れ、8日に後肢の完全麻痺を示した。この発症した2匹を殺し、その脳押捺標本より *St. m.* を検出し、脳は血液寒天、血清寒天37°C、2日間培養で *St. m.* を証明した。

III. 総括並びに考按

著者は1950年12月から1955年6月の間に、ウイルス或はリケッチアの分離又は保存株の継代中に、或は未接種マウスで前肢又は後肢の肢脱、関節腫脹などの症状を示したマウス又、全く健全に見えるマウスの脳、脾、肝、心血、腎から *St. m.* 13株を分離した。

マウス脳内接種により脳炎、脳膜炎症状を示す場合は、向神経性ウイルスが分離されたと思われたし、腹腔内接種による時は、粘稠性浸出物を伴う腹膜炎を起すの

で、リケッチアが疑われた。しかし細心の注意の下に行われた培養の結果、これらの発病因子は、*Streptobacillus moniliformis* であることを明にした。

最近マウスは種々ウイルス、リケッチアの分離に好んで使用されるが、マウス自然感染病原体として *Salmonella*, *Pasteurnella* は言うに及ばず、日本脳炎、脈絡膜脳炎、マウスポリオ、唾液腺炎、エクトロメリア、マウス肝炎、HVTのウイルスがあり、PPLOが警告されて居る。更にここに細菌学上全く特異の位置を示すところの極めて多型性であり、時に濾過性を示す分離培養の比較的困難なる *Streptobacillus moniliformis* を指摘出来た。

結 語

本邦で動物商の納入するマウスには、*Streptobacillus moniliformis* の不顕性感染がある。かかるマウスを以つてマウス累代接種するときには、この菌の迷入が起ることを警告する。

文 献

- 1) C. Levaditi, R. F. Selbie, R. Schoen: *Ann. Inst. Pasteur.* 48, 308-343, 1932.
- 2) C. E. Van Rooyen: *J. Path. and Bact.*, 43, 455-472, 1936.
- 3) Luis. Diens: *J. Infect. Dis.*, 65, 24-42, 1939.
- 4) F. F. Allbritten, R. Fsheery and W. A. Jeffers: *J. A. M. A.*, 114, 2361-2363, 1940.
- 5) W. A. Altermeier, Harry Synder and Gertrude Howe: *J. A. M. A.* 127, 270-273, 1945.
- 6) Topley and Wilson: *Principles of Bacteriology and Immunity*, 3rd ed. 385-387, 1946.
- 7) Jennie S. Levey and Stanley Levey: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* 68, 314-317, 1948.
- 8) Louis Diens and Howard J. Weinberger: *Bact. Rev.*, 15, 245-288, 1951.
- 9) E. Klieneberger Nabel: *Bact. Rev.*, 15, 77-105, 1951.
- 10) A. B. Sabin: *Bacterial and Mycotic Infection of man*, 2nd Edition, 616-620, 1952.
- 11) 鈴木敏雄: 日本細菌学雑誌, 8, 261-265, 1953.
- 12) 鈴木敏雄: 日本細菌学雑誌, 8, 683-694, 1953.