菌体自家融解液による *Sh. flexneri* の抗原変換

松 井 清 治

岩手県衛生研究所

〔受付：7月31日・1957年〕

Salmonella E群のO抗原変換現象は Bruner & Edwards¹⁾ の報告以来、小原²⁾、植竹³⁾、井関⁴⁾ らによつて追試確認された。抗原変換の機構については、Bruner & Edwards¹⁾ らは菌体成分の作用を否定出来ないとしているが、井関⁴⁾ らは詳細な研究の結果、抗原変換因子がバクテリオファージそのものであることを明にした。*Salmonella* の抗原変換現象とバクテリオファージとの関係については、中川武綱⁵⁾、原田⁶⁾、中川昭久⁷⁾ らの報告の中でさらに検討が加えられている。*E. coli* のO抗原のDNAによる定向性変異については Boivin¹⁰⁾ の報告があり、また Weil¹¹⁾ はブイオン培養濾液をもちいて、*Sh. flexneri* の抗原変換現象を報告している。篠川¹²⁾、中村¹³⁾ は抗血清加ブイオンに培養することにより、*Sh. flexneri* 1b→*Sh. flexneri* 3b への型抗原変換を明にした。著者は *Sh. flexneri* 各型の多数菌株について、その菌体自家融解液と、各型菌株との間の関係について検討中、*Sh. flexneri* 4C : EW19 から作った菌体自家融解液が、*Sh. flexneri* 1a と *Sh. flexneri* 3b に弱い溶菌作用を示すことに着目し、さらに追究の結果、その間に抗原変換現象をみとめたので報告する。

材料および方法

菌体自家融解液の作製には、*Sh. flexneri* 4C, EW19 をもちい、対応株として、*Sh. flexneri* 1a では、標準菌株 EW8 と分離菌株 No. 2223, No. 2293, また *Sh. flexneri* 3b では分離菌株、荘内株をもちいた。

菌体自家融解液作製は井関⁴⁾ らの方法により、*Sh. flexneri* 4C, EW19 の普通肉水寒天斜面培養を生理食塩水1ccにつき約50mgの割合に浮遊させたものを、37°C, 48時間フランキ中に納めた後、凍結融解を15~20回繰り返して、遠心沈澱した上清をBerkfeld型濾過器N型にて濾過し、無菌なることを確かめてもちいた。上記無菌菌体自家融解液を適量加えたブイオンに、単一集落から出発し、3代継代した対応株を移植し、以下日を追つて普通肉水寒天平板上に分離培養し、生じた単一集落について試し凝集をおこない、抗原変換株の出現を検した。

実験成績

1) I→IVへの抗原変換

Sh. flexneri 4C, EW19 から別個に作製した菌体自家融解液をもちい、*Sh. flexneri* 1a, EW8 の抗原変換について実験した成績は第1表に示す如く、培養第1

第1表 *Sh. flexneri* 4C(EW19)の菌体自家融解液による *Sh. flexneri* 1a(EW8)の抗原変換

実験 番号	菌体自家融 解液番号	抗 原		被 検 集落数
		I : 4	IV : 4	
1	1	9	11	20
2	"	36	34	70
3	"	22	17	39
4	"	14	13	27
5	"	14	7	21
6	2	28	2	30
7	3	26	4	30
8	4	2	18	20
9	"	11	9	20
10	"	5	15	20
11	5-1	13	7	20
12	5-2*	19	1	20

* 凍結融解せず

日でかなりの抗原変換が認められたが、濾液 No. 5 をもちいた場合、同一資料を2分して、凍結融解したときと、しないときでは、後者でも抗原変換は起るが、その出現率は前者に比べて低い。

さらに第2表に示した如く、3系列について、一週間各日20ヶ集落について抗原変換株の出現率を観察すると途中抗原変換株が若干増加を示すが、培養第1日と第7日の抗原変換株出現率の間に著しいひらきがみられない。抗原的にみて、IおよびIV因子血清の双方に凝集を示す

MATSUI, Seiji: Antigenic Changes in *Shigella flexneri* group by the action of bacterial autolysate. Hygienic Laboratory of Iwate Prefecture, Morioka. —Jap. J. of Bact., 12(10), 791-794, 1957.

第2表の1 抗原変換株の出現状況
(菌体自家融解液 No. 4 使用)

供試菌株	培養No.	培養日数	抗 原				計
			I	IV	I, IV	*I, IVとも非凝集	
Sh. flexneri 1 a (EW 8)	I	1	0	18	1	1	20
		2	2	16	0	2	"
		3	1	19	0	0	"
		4	1	17	0	2	"
		7	0	7	0	13	"
	II	1	9	8	0	3**	"
		2	4	15	1	0	"
		3	2	14	2	2	"
		4	4	15	0	1	"
		7	0	11	0	9	"
	III	1	3	12	3	2	"
		2	3	14	0	3	"
		3	0	18	1	1	"
		4	0	18	0	2	"
		7	0	6	0	14	"
Sh. flexneri 1 a (No. 2223)	IV	1	20	0	0	0	"
		2	15	2	3	0	"
		3					
		4					
		7	14	3	1	2	"
Sh. flexneri 1 a (No. 2293)	V	1	20	0			"
		2	20	0			"
		3	20	0			"
		4	20	0			"
		5	19	1			"
		6	18	2			"
		7	18	2			"

* 群抗原 4 のみに凝集を示す

** 継代2代目で3 { 2 : 群 4 抗原のみ
1 : IV : 4 抗原所有

集落と、双方に凝集を示さない集落がみとめられたが、前者からは継代すると I, IV $\xrightarrow{I}$ の分離がみられ、後者は variant Y に一致した。Sh. flexneri 1 a の分離菌株 No. 2223 では培養第2日目にIV型に変換したもの2株、第7日目に2株をえた。また No. 2293 では第5日目に1株、第7日目に2株をえた。分離菌株からの抗原変換株出現率は、標準株の場合に比べて低く、またブイオンの透明化も標準株の場合ほど著明でなかった。対応株からの菌体自家融解液には自身に対する抗原変換能はみられないが、抗原変換株から作った菌体自家融解液には Sh. flexneri 4 C, EW19 よりのもと同様、その原株に対し弱い溶菌作用を示し、また抗原変換能がみとめられた。

第2表の2 抗原変換株の出現状況
(菌体自家融解液 No. 4)

供試菌株	培養No.	培養日数	抗 原				計
			III 4.6	III. IV. 6	III 6	IV 6	
Sh. flexneri 3 b (荘内株)	I	1	17	0	1	2	20
		2	18	0	0	2	"
	II	6	20	0	0	0	"
		7	16	0	3	1	"
		8	15	0	5	0	"
		9	15	0	4	1	"
		11	15	2	2	1	"
	III	6	20	0	0	0	"
		7	18	0	2	0	"
		8	8	4	6	2	"
		9	4	8	5	3	"
		11	11	4	3	2	"

2) III → IV への抗原変換

分離菌株 Sh. flexneri 3 b (荘内) をもちいての実験成績は第2表の2に示すごとく、第1系列では培養1日目に $2/20$ 、(分母は被検集落数、分子は抗原変換を起した集落数を表わす)第2日目に $2/20$ 、第2系列では、第7日目に $1/20$ 、第11日目に $1/20$ 、第3系列では第8日目に $2/20$ 、第11日目に $2/20$ の抗原変換株がみられ、また抗原的に III, IV 因子血清の双方に凝集する集落もみられたが、IV または III・IV 抗原をみとめる集落では、いずれも群抗原 4 が消失し、IV : 6、または III・IV : 6 の抗原構造を示した。III → IV への抗原変換実験では、ブイオンの透明化も殆んどみられず、また抗原変換株の出現率も I → IV への

第3表 原株および変異株の生物学的性状

菌 株	諸 性 状							
		Mannitol	Sorbitol	Arabinose	Xylose	Rhamnose	Maltose	Indol
Sh. flexneri 1 a (EW8)		+	—	+	—	—	—	+
" 1 a → 4 a		+	—	+	—	—	—	+
" 1 a (2223)		+	—	±	—	—	—	—
" 1 a → 4 a		+	—	±	—	—	—	—
" 1 a (2229)		+	—	±	—	—	—	—
" 1 a → 4 a		+	—	±	—	—	—	—
" 3 b (荘内)		+	—	+	—	—	—	—
" 3 b → 4 b		+	—	+	—	—	—	—
" 4 c (EW19)		+	—	+	—	—	—	—

抗原変換実験に比べて低かった。

3) 抗原変換株の生物学的性状

マンニトール, アラビノース, キシロース, ラムノース, マルトース, ソルビトール等の含水炭素分解能, インドール反応についてみると, 第3表に示す如く, 抗原変換株はいずれもその原株の性状を示し, *Sh. flexneri* 4 C, EW 19 はインドール反応陰性であるが, *Sh. flexneri* 1 a, EW 8 よりの抗原変換株は原株同様インドール反応陽性, 又 No. 2223, No. 2293 よりの抗原変換株はそれぞれ原株同様インドール反応陰性で, また *Sh. flexneri* 4 C, EW19 はアラビノースを著明に分解するが, 上記2株の抗原変換株は原株同様分解が明瞭でない。*Sh. flexneri* 3 b よりの抗原変換株は原株同様上に示した生物学的性状については *Sh. flexneri* 4 C, EW 19 と区別出来ないが, 集落の性状および発育態度から容易に区別された。現在までの生物学的性状検査では菌体自家融解液作製株である *Sh. flexneri* 4 C, EW19 の性状が抗原変換株に導入された成績はみられない。

4) 吸収試験

吸収試験の結果は第4表に示す如く, 原株家兔免疫血

第4表 原株, 抗原変換株免疫血清を用いての吸収試験

抗 原	抗 血 清			
	<i>Sh. flexneri</i> 1 a (EW 8)		<i>Sh. flexneri</i> 3 b (荘内株)	
	原株血	変換株血清一変換株	原株血	変換株血清一変換株
<i>Sh. flexneri</i> 1 a, EW 8 原	320	0	0	0
" " " 変	0	160	0	80
" " No. 2223 原	320	0	0	0
" " " 変	0	160	0	80
" " No. 2293 原	160	0	0	0
" " " 変	0	80	0	40
" 3 b, 荘内株 原	0	0	40	0
" " " 変	0	160	0	80
" 4 a, EW17	0	160	0	80
" 4 b, EW18	0	160	0	80
" 4 c, EW19	0	160	0	80

清から抗原変換株を吸収した場合には, I ないし III 抗体のみ残り, また抗原変換株家兔免疫血清からそれぞれの原株を吸収するといずれも IV 抗体が残り, その他の抗体はすべて吸収された成績がえられた。

5) 菌体自家融解液の性状

Sh. flexneri 4 C, EW19 よりの無菌菌体自家融解液

の1例では, 寒天重層法で, *Sh. flexneri* 1 a, EW 8 に対し, 4.5×10^4 ケ, *Sh. flexneri* 3 b, 荘内株に対し 40×10^4 ケのブラック数を示し, このブラックは小さく, 辺縁も明瞭さを欠いた。56°C, 30分加熱すると, ブラック数はほぼ半減するが, 抗原変換能は残存し, 70°C, 30分加熱すると, ブラックはみとめられず, 抗原変換能も消失した。定性反応ではDNAはみとめられなかった。

考 按

Weil¹¹⁾らは *Sh. flexneri* の抗原変換について実験し, 3例に抗原変換をみたことを報告しているが, 同一結果の再現が不能であったとのべている。著者は菌体自家融解液を作り直しても, 各回ともその割合は別として常に抗原変換をみとめえた。*Salmonella* E群のO抗原変換にみられる様に本実験も, *Sh. flexneri* 4 C, EW 19 のテンペレートなファージが, *Sh. flexneri* 1 a ないし *Sh. flexneri* 3 b に lysogenization^{14,15)} を起す結果抗原変換が成り立つものと思われ, 抗原変換が70°C, 30分の加熱で失われ, 菌体自家融解液中のバクテリオファージと平衡関係を示す点, また菌体DNAが定性反応でみとめられないことから, transformation とは異なるものと思われ, また抗原変換がかなりの頻度でえられ, しかも抗原変換株が溶原化されている点, transduction ないし突然変異の結果とは区別される様である。I → IV, あるいは III → IV への抗原変換の場合, I・IV, あるいは III・IV の如き, 菌体自家融解液作製株の抗原因子が組みあわされた形の抗原をもつ集落がえられ, 前者はさらに I, IV $\xrightarrow{I, IV}$ と分離を示した。著者ら¹⁶⁾はさらに, 保存中の *Sh. flexneri* 3 a の分離菌株の中から, *Sh. flexneri* 4 b を1株えたことを報告したが, 今回実験的に *Sh. flexneri* 3 b → *Sh. flexneri* 4 b への抗原変換を確かめた。

総 括

Sh. flexneri 4 C, EW19 から作った菌体自家融解液をもちい, I → IV, および III → IV への抗原変換を明かにしえた。抗原変換因子は *Sh. flexneri* 4 C, EW19 のもつ, テンペレートなファージと考えられる。抗原変換株はそれぞれの原株の生物学的性状をもち, 菌体自家融解液作製株の生物学的性状が抗原変換株に導入された成績はみられない。

文 献

- 1) Bruner, D. W. & Edward, P. R.: J. Bact., 55 (3), 449, 1948.
- 2) 小原堯: 札幌医科大学紀要, 1 (2), 68, 昭和25年.

- 3) 植竹久雄, 佐々木禎一, 水島宣昭, 永井達夫, 秋葉享, 中川武彌, 伊勢俊明, 富樫清徳 : 第25回日本細菌学会総会演説抄録, 27, 昭和27年.
- 4) 井関尙栄, 酒井達夫 : 医学と生物学, 28(2), 77, 1953.
- 5) 井関尙栄, 酒井達夫 : 医学と生物学, 28(5), 193, 1953.
- 6) 中川武彌 : 日本細菌学雑誌, 10(4), 363, 1955.
- 7) 原田賢治 : ウィルス, 6(4), 285, 1956.
- 8) 原田賢治 : ウィルス, 6(4), 300, 1956.
- 9) 中川昭久 : 日本細菌学雑誌, 12(1), 47, 1957.
- 10) Boivin, A. : Cold Spring Symposia on Quantitative Biology, XII, 7, 1947.
- 11) Weil, A.J. & Binder, M. : Proc. Soc., Exper. Biol. Med., 66, 349, 1947.
- 12) 篠川至, 小泉衡平, 池村謙吾 : 日本細菌学雑誌, 7, 370, 1952.
- 13) 中村伸蔵 : 日本細菌学雑誌, 8(9), 933, 1953.
- 14) 田波洋 : 日本細菌学雑誌, 11(5), 391, 1956.
- 15) 寺島東洋三 : 生物科学, 8(1), 16, 1956.
- 16) 松井清治 : 日本細菌学雑誌, 9(7), 521, 1954.