陰イオン交換樹脂の I 型百日咳菌発育支持 作用機序に関する研究

第 II 報 陰イオン交換樹脂の TCA Cycle 関与有機酸代謝に及ぼす影響

岸 上 正 義

大阪市立大学医学部細菌学教室

[受付: 1月23日・1959]

緒 言

陰イオン交換樹脂の I 型百日咳菌発育支持作用はイオン交換能と樹脂の構造が重要な要素であることを前報¹⁾において報告したが、江頭²⁾は結核菌に対するイオン交換樹脂の発育支持作用は呼吸の助長が主要な役割をしめていると考えてをり、又阿部³⁾は活性炭の I 型百日咳菌発育支持作用の機序に関して同様に呼吸促進作用を解明の資としている。

著者は TCA Cycle 関与有機酸の酸素消費によつて陰イオン交換樹脂添加時の物質代謝促進作用の有無を検し併せて活性炭における場合と比較検討したのでここに報告する。

実験材料及び方法

供試菌: Bordet-Gengou 培地, 3日培養の I 型百日咳菌 18—323 株を陰イオン交換樹脂 Amberlite I R 4 B 添加液体培地⁴⁾に4日間増菌し, M/15 Phosphate buffer, pH 7.2 (M/15 Na_2HPO_4 及び M/15 KH_2PO_4 から成る Sprensen の Buffer) で3回洗滌し, 400mg/ml になる如く同上の Buffer に浮遊しこれを休止菌液として用いた。

使用イオン交換樹脂: Amberlite I R 4 B の 40~60 mesh のものを第 I 報と同様に処理し OH 型のものを用いた。樹脂は予め前述の Buffer に24時間浸漬した後これを用いた。

使用活性炭: 第 I 報¹⁾と同様のものを前述の Buffer に 100mg/ml となる如く加え, これをメスピベットで Flask に注入した。

使用基質: M/50 溶液を調製し, 何れも NaOH で中性とした。

酸素吸収量の測定法: Warburg 検圧計を用い酸素吸収量を測定した。尚実験条件は次の如くである。

Warburg flask 内の組成は

主室に休止菌液 0.5ml, 及び陰イオン交換樹脂 Amberlite I R 4 B 100mg を含む Buffer 0.5ml 又は Buffer 0.5ml のみを, 側室には M/50 基質溶液 0.5ml 又は蒸溜水 0.5ml を夫々, 副室には 20% KOH を 0.2 ml を夫々入れ総量を 1.7ml とした。即ち樹脂及び基質の最終濃度は夫々 6.7% 及び M/150 とした。

Gas 腔は空気を満たし, 振盪は 37°C で毎分 130~140 回で行つた。Preincubation は 10 分間行つた。酸素吸収量は O_2 (μl) per 60min で表した。

実験成績

1. Endogenous Respiration に及ぼす樹脂の効果

反復した実験において 6.7% 以下の樹脂の添加によつては Endogenous Respiration に変化を与えなかつた。

2. TCA Cycle 関与有機酸の酸素消費に及ぼす樹脂の効果

各 M/150 の Glutamate, Fumarate, Malate, α -Ketoglutarate, Succinate を基質として樹脂添加時の酸素消費の状態を検した所実際の培養に用いる樹脂の添加量である 0.2% では殆んど酸素消費に変化を与えなかつたが樹脂の添加量を 6.7% とした場合は 4%~25% の酸素消費

KISHIGAMI Masayoshi: On the Mechanism of Growth-Supporting Effect of Some Anion Exchange Resins for Phase I Bordetella Pertussis. II. Influence of Some Anion Exchange Resins on the Metabolism of TCA Cycle Organic Acids. Department of bacteriology, Osaka City University Medical School, Osaka. —Jap. J. of Bact. 14 (8), 690-692, 1959.

第1図 M/150 Glutamate の酸素消費

第2図 M/150 Fumarate の酸素消費

第3図 M/150 α -Ketoglutarate の酸素消費

第4図 M/150 Succinate の酸素消費

量の上昇が見られた。(第1図~第4図)

但し Malate に関しては数種の標品を用いての反復した実験にも拘らず著者の行った実験の条件では酸素消費は認め得なかつた。

又参考として樹脂の代りに活性炭を添加して酸素消費の状態を検したがその結果は α -Ketoglutarate 及び Succinate を基質とした場合は酸素消費の増加が認められたが Glutamate, fumarate を基質とした場合には酸素消費の増加に有意の差は認められなかつた。(第1表)

考 察

活性炭のI型百日咳菌発育支持作用の機序に関しては Pollock⁵⁾, 阿部⁶⁾ 等によつて研究されているが何れも推測の域を脱していない。

著者は陰イオン交換樹脂のI型百日咳菌発育支持作用機序解明の一助として物質代謝促進作用の有無を検圧法

第 1 表

基 質	添加により上昇した 酸 素 消 費 %	
	樹 脂	活 性 炭
Glutamate	15%	26%
Fumarate	4%	19%
α -Ketoglutarate	24%	50%
Succinate	25%	47%

によつて酸素吸収の面から検したが基質を用いた場合樹脂の添加による酸素の消費の促進は 6.7%程度の大量の添加によつても25%以内に止まり、幾分呼吸促進の傾向は伺われるが必ずしも有意の差とは云い難いと思われる。従つて樹脂の存在が酸素吸収の促進に一役を買つてゐるとは考えにくい。

一方活性炭の場合は使用した基質中 α -Ketoglutarate

及び Succinate を基質とした場合にのみ明らかな酸素消費の増加が認められ、この2種の基質に関する限りは阿部³⁾と同様の成績であつた。

樹脂と活性炭との両者間に以上の基質を用いた場合の呼吸促進作用に差のある理由は現在のところ説明困難である。

又陰イオン交換樹脂において Glutamate, Fumarate, α -Ketoglutarate, Succinate を基質とした場合にI型百日咳菌の呼吸促進が認め難いことから陰イオン交換樹脂のI型百日咳菌発育支持作用は呼吸とは一応無関係であると思われ寧ろ第I報¹⁾において述べたように樹脂が液体内に静置した状態において、又長時間菌体と樹脂の接近し得る状況においてイオン交換能が菌体に対して直接、間接に働きかける結果であるとする考え方が有力であると思われる。

結 論

TCA Cycle 関与有機酸を基質とした場合のI型百日咳菌の菌の酸素消費に及ぼす陰イオン交換樹脂の影響に

ついて検討した所4~25%の酸素消費の増大が認められた。しかしこの結果のみによつて陰イオン交換樹脂のI型百日咳菌発育支持作用機序を説明し得るとは考えられない。寧ろ第I報¹⁾において述べた結果が重要であると考えられる。

拙筆に当り終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた桑島謙夫教授に謹みて謝意を捧げる。また種々御助言を忝うした増井正幹助教授および丹羽允講師に深謝するとともに頭初より御指示を頂いた松井利隆博士にも併せて感謝の意を表す。

文 献

- 1) 岸上正義：日本細菌学雑誌，13，1053，1958.
- 2) 江頭 勇：久留米医学雑誌，18，120，1955.
- 3) 阿部貞太郎：日本細菌学雑誌，7，67，81，85，1952.
- 4) Kuwajima Y., Matsui, T., & Asano, A. : Yokohama Medical Bulletin, 6, 375, 1955.
- 5) Pollock, M. R. : Brit. J. Exp. Path., 28, 295, 1947.