赤痢菌の嫌氣性抗原に関する研究 (第1報)

小 川 透

名古屋女子醫科大學細菌學教室*

〔受付: 12月27日, 1949年〕

赤痢菌を嫌氣性に培養してその性状, 抗原性等について研究した結果各種の所見をえたが, とくに赤痢菌が嫌氣性培養において獲得する抗原は, 從來の好氣性培養の抗原と異なるものであることを認めた。この抗原の研究は將來各方面の研究に影響を與えるものと考えられるので, ここに成績を報告して批判を仰ぎたい。

I 實驗方法

赤痢菌としては研究室に普通寒天斜面で繼代培養して居る大原菌1株, 中村菌1株を用いた。各種の性状を確めた。

培地は主として pH7.4 の普通寒天培養基を平板または斜面として用いた。その他各種の培地を用いたが製法は常法の通りである。

嫌氣性培養法としては減壓培養を用いた。菌を培地に塗抹し嫌氣性培養罐に納め, ロータリーポンプで10—17mmHg に減壓して閉鎖し, そのまゝ 37°C の孵卵器に納め 24 時間培養した。

定量的凝集反應の方法としては, 0.85%生理的食鹽水を以つて血清を 20 倍より倍數稀釋したもの各 1.0 cc を小試験管に入れ, これに菌液を滴下しよく混合した後, 37°C の孵卵器に 2 時間, 室温に 22 時間置いて後觀察した。菌液は菌を普通寒天斜面に 37°C 24 時間嫌氣性あるいは好氣性に培養し, 生理的食鹽水で 1 cc 5 mg の菌液を作り, これを 3 滴ずつ滴下した。

吸收試験は一般の方法による。その他の検査法も常法の通りである。

II 實驗成績

1. 嫌氣性培養菌の集落

大原菌, 中村菌各 1 株ずつを普通寒天平板培地に塗抹し 37°C 24 時間, 10 代の間繼代して減壓培養し, 集落の状態を觀察した。

減壓培養すると兩菌株とも集落はいずれも半透明, 灰白色, 無構造, 濕潤, 圓形, 縁滑で食鹽水に對し安定であり, S 型の集落である。集落の大きさの變化は著明で, いずれも矮小菲薄な集落となる。これは繼代培養しても變らない。但し減壓培養で矮小菲薄となつた集落も, これを好氣性に培養すればじきに普通大に戻る。

2. 嫌氣性培養菌の菌形

前記繼代減壓培養の集落より菌を採り, グラム染色を行つて觀察した。

大原菌, 中村菌共に菌は著明に大形の桿菌となり, かつ連鎖を作る傾向を示す。グラム染色性に變化はなく, いずれも陰性である。

3. 嫌氣性培養菌の一般性状

大原菌, 中村菌を各種培地に植え, 37°C 24 時間減壓培養して牛乳凝固, 乳糖, 葡萄糖, マンニットの分解, カタラーゼ反應, インドール反應 (北里 Salkowski 氏法) 等の諸性状を検査すると, 大原菌はこれを好氣性培養で検査した場合と同様である。中村菌も他の諸性状は好氣性培養と同様であるが, そのインドール反應は好氣性培養では陰性であるが, 減壓培養では陽性に出現してくるのを認めた。

4. 嫌氣性培養菌の抗原性

凝集反應及び吸收試験を用いて嫌氣性培養菌の抗原性の變化を實驗した。

(1) 好氣性培養菌免疫血清に對する凝集反應

大原菌, 中村菌を普通寒天平板培地に塗抹し 37°C 24 時間 10 代の間繼代して減壓培養すると, いずれの代も矮小菲薄な集落を生じる。この第 1 代及び第 10 代培養の集落より普通寒天斜面に移植し, 37°C 24 時間減壓培養したものをそれぞれ第 1 代及び第 10 代の純培養とし, これを以つて生菌液を作り, 各菌好氣性培養の 60°C 30 分加熱菌免疫血清に對して定量的凝集反應を行つた。對照として好氣性培養についても同様に定量的凝集反應を行つた。

その結果はつぎの様である (第 1 表參照)。

大原菌の減壓培養生菌は好氣性培養生菌に比較して, 第 1 代及び第 10 代において著明に凝集價を減じ, 殆んど凝集しない。

中村菌の減壓培養菌も好氣性培養生菌に比較して, その第 1 代及び第 10 代培養に於て凝集價を減じている。

* 名古屋市瑞穂區田邊通三

Tohru OGAWA: Study on the anaerobic antigen of dysentery bacilli (I) Japan. J. Bact., 5(2): 43—47, 1950.

第 1 表 好気性培養菌免疫血清に対する減壓培養菌の凝集反應

血清稀釋(倍)		20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120	10240	20480	對 照
大 原 菌	對照好氣性培養	卅	卅	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	減壓培養第1代	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	減壓培養第10代	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
中 村 菌	對照好氣性培養	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	-	-
	減壓培養第1代	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	-	-	-	-
	減壓培養第10代	卅	卅	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

卅強度陽性, 卅中等度陽性, +弱陽性, ±陽性陰性の中間, -陰性

この點からこれらの菌株は減壓培養すると凝集價を減じ、難凝集性となることを認めた。この難凝集性は同様の實驗を繰り返して行つても著明である。この難凝集性は果して何に由來するものであろうか？ 私はこれを嫌氣性培養に因つて赤痢菌の抗原に變化を生じるものであると考察して、この變化した抗原を探究すべくつぎの實驗を行つた。

(2) 嫌氣性培養生菌, 好氣性培養生菌と其の免疫血清との相互間の凝集反應

大原菌, 中村菌を普通寒天斜面に 37°C 24 時間減壓及び好氣性に培養し、これを以つて菌液を作り、この生菌液を用いてウサギを免疫して生菌免疫血清を作つた。そして大原菌及び中村菌を 37°C 24 時間減壓培養, または好氣性培養で培養し、この生菌液を用いて前記減壓培養生菌免疫血清, 好氣性培養生菌免疫血清に對する定量的凝集反應を行つた結果、つぎの様な成績が得られた (第2表參照)。

*大原菌の好氣性培養生菌は好氣性培養生菌免疫血清にはよく凝集するが、減壓培養生菌免疫血清に對しては凝集價が低い。

大原菌の減壓培養生菌は好氣性培養生菌免疫血清には凝集し難いが、減壓培養生菌免疫血清にはより強く凝集する。

中村菌の場合も同様に、その好氣性培養生菌は好氣性培養生菌免疫血清に對し、減壓培養生菌免疫血清に對するよりもより強く凝集し、また減壓培養生菌は減壓培養生菌免疫血清に對し、好氣性培養生菌免疫血清に對するよりもより強く凝集する。

以上の成績からつぎの様な結論が生れてくる。好氣性培養生菌は減壓培養生菌よりも餘分の抗原を有する。

減壓培養生菌は好氣性培養生菌よりも餘分の抗原を有する。

この二つの餘分の抗原は量的の差でなく、質的の差

第 2 表 減壓培養生菌, とその生菌免疫血清との間に行つた凝集反應

菌	血 清	血清稀釋 (倍)											對照
		20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120	10240	20480	
大原菌 好氣性培養 生菌	大原 菌減 壓培養 免疫 血清	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	大原菌好氣性培養免疫血清	卅	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
大原菌 減 壓 培 養 生 菌	大原 菌減 壓培養 免疫 血清	卅	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	大原菌好氣性培養免疫血清	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
中村菌 好氣性培養 生菌	中村 菌減 壓培養 免疫 血清	卅	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
	中村菌好氣性培養免疫血清	卅	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
中村菌 減 壓 培 養 生 菌	中村 菌減 壓培養 免疫 血清	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	+	-	-
	中村菌好氣性培養免疫血清	卅	卅	卅	+	+	+	+	-	-	-	-	-

記號は第1表と同様

がある。

好氣性培養生菌はその本来の抗原の他に、少量の嫌気性培養生菌の抗原を併せ有する。

減壓培養生菌はその本来の抗原の他に、少量の好氣性培養生菌の抗原を併せ有する。

かくて好氣性培養生菌と減壓培養生菌とは各々特異の抗原を有する事を推定し得たので、さらにこれを確かめるべく、つぎの吸収試験を行った。

(3) 吸収試験

大原菌、中村菌の好氣性培養生菌及び減壓培養生菌と、その生菌免疫血清を用いて相互に吸収試験を行った。

大原菌好氣性培養生菌免疫血清を同菌の減壓培養生菌で吸収し、この吸収血清につき大原菌の好氣性培養生菌と減壓培養生菌の凝集反応を行った。逆に大原菌減壓培養生菌免疫血清を同菌の好氣性培養生菌で吸収し、この吸収血清につき大原菌の減壓培養生菌と好氣性培養生菌の凝集反応を行った。

中村菌の好氣性培養生菌免疫血清、減壓培養生菌免疫血清についても、全く同様の方法の吸収と凝集反応を行った。

この吸収試験の結果はつぎの様である(第3表参照)。

第3表 減壓培養及び好氣性培養生菌免疫血清の吸収試験

免疫血清	吸収菌	凝集原	血清稀釋(倍)							
			20	40	80	160	320	640	1280	對照
大原菌 好氣性培養 生菌免疫血清	大原菌 減壓培養生菌	大原菌好氣性培養生菌	+	+	+	+	-	-	-	-
		大原菌減壓培養生菌	-	-	-	-	-	-	-	-
大原菌 減壓培養 生菌免疫血清	大原菌 好氣性培養生菌	大原菌減壓培養生菌	+	+	+	+	+	+	-	-
		大原菌好氣性培養生菌	-	-	-	-	-	-	-	-
中村菌 好氣性培養 生菌免疫血清	中村菌 減壓培養生菌	中村菌好氣性培養生菌	+	+	+	+	+	-	-	-
		中村菌減壓培養生菌	-	-	-	-	-	-	-	-
中村菌 減壓培養 生菌免疫血清	中村菌 好氣性培養生菌	中村菌減壓培養生菌	+	+	+	+	-	-	-	-
		中村菌好氣性培養生菌	-	-	-	-	-	-	-	-

記号は第1表と同様

大原菌の好氣性培養生菌免疫血清を減壓培養生菌で吸収しても、好氣性培養生菌とは凝集反応を起す。即ち減壓培養生菌で好氣培養生菌に対する抗體を吸収し得ない。換言すれば好氣性培養生菌の抗原は減壓培養生菌の抗原とは異なるものである。

大原菌の減壓培養生菌免疫血清を好氣性培養生菌で

吸収しても、減壓培養生菌とは凝集反応を起す。即ち好氣性培養生菌で減壓培養生菌に対する抗體を吸収し得ない。換言すれば減壓培養生菌の抗原は好氣性培養生菌の抗原と異なるものである。

中村菌について行つた吸収試験の結果も大原菌の成績と全く同様で、中村菌もその好氣性培養生菌と減壓培養生菌とは異なる抗體を所有することを吸収試験の結果確め得た。

(4) 嫌氣性抗原及び好氣性抗原

前述の實驗成績から大原菌、中村菌を減壓培養法を用いて嫌氣性に培養すると、好氣性培養と異なる抗原が現れてくるのを認めた。私はよつてこの嫌氣性培養菌に出現する從來未報告の抗原を嫌氣性抗原 anaerobic antigen と假稱し、對稱上好氣性培養菌に從來認められた抗原を好氣性抗原 aerobic antigen と假稱する事にした。

嫌氣性抗原は一種の菌體抗原である事はいうまでもない。またそれがR型の抗原でないことも減壓培養の集落がS型であり、鹽類に對し安定である點や凝集反應の特異的な點から推定し得る。

同じ菌がこれを好氣性に培養すれば好氣性抗原を持つて現われ、これを嫌氣性に培養すれば嫌氣性抗原を持つて現われてくるものである

II 嫌氣性抗原の性状

1. 耐熱性

大原菌減壓培養生菌免疫血清に對する凝集反應を観察すると、大原菌減壓培養生菌の生菌(凝集價 320 倍)よりも 100°C 30 分加熱菌(凝集價 40 倍)の方が凝集價が低い。

中村菌減壓培養生菌免疫血清に對する凝集反應の成績を見ると、中村減壓培養菌の生菌(凝集價 10240 倍)よりも 100°C 30 分加熱菌(凝集價 80 倍)の方が凝集價が遙かに低い。

この様に、減壓培養生菌免疫血清に含まれる凝集素に對する減壓培養生菌の嫌氣性抗原の凝集原性は、加熱により影響を受ける。

2. 毒性

大原菌、中村菌を普通寒天斜面に植え 37°C 24 時間好氣性及び減壓培養し、その生菌各 0.2mg(液量 0.2 cc)を體重 15g のマウス(5 匹を 1 組とする)の腹腔内に注射して 7 日間その成績を觀察し、嫌氣性抗原含有菌の菌力を好氣性抗原含有菌の菌力と比較した。斃れたマウスは解剖して菌を培養證明した。

その結果を見ると、大原菌好氣性培養を注射したマウスは 2 匹發病斃死して 3 匹生存し、同菌減壓培養を注射したマウスは 1 匹發病斃死して 4 匹生存した。

中村菌好氣性培養を注射したマウスは 2 匹發病斃死して 3 匹生存し、同菌減壓培養を注射したマウスは 2 匹發病斃死して 3 匹生存した。

以上の成績から減壓培養を行つた場合には、嫌氣性抗原含有菌の菌力は好氣性抗原含有菌の菌力とはほぼ同様であることを知つた。そして嫌氣性抗原の毒性は好氣性培養菌の抗原に比較して強いものではなく、大體同様であると推定する。

IV 嫌氣性相及び好氣性相

赤痢菌の嫌氣性培養菌の抗原性を追求した結果、嫌氣性培養生菌に嫌氣性抗原の存在を確認し、これに對應する爲に好氣性培養菌の抗原を好氣性抗原として對稱した。

培養の如何により赤痢菌にこの 2 つの抗原が相互に現われることを考えると、この抗原的根據に立脚して必然的に赤痢菌に 2 つの相を考えるべきだという結論に歸着する。好氣性培養で現われる相と嫌氣性培養で現われる相である。

好氣性培養で現われる相を好氣性相 aerobic phase とし、嫌氣性培養で現われる相を嫌氣性相 anaerobic phase と假稱したい。

前述の實驗結果に基いてこの 2 つの相の特徴を述べると、つぎの様である。

好氣性相は好氣性に培養した場合に現われる相である。抗原は好氣性抗原を主とし、少量の嫌氣性抗原を併せ有する。集落は普通大で S 型である。菌は普通大、性狀は普通、菌力も普通である。

嫌氣性相は嫌氣性に培養した場合に現われる相であ

る。抗原は嫌氣性抗原を主とし少量の好氣性抗原を併せ有する。集落は減壓培養では矮小菲薄で S 型である。菌は減壓培養では大形となり連鎖を作る傾向がある。性狀に多少の變化を來す事がある。菌力は好氣性相とはほぼ同様である。

この 2 つの相によつて赤痢菌に第 4 表に示す様な好氣性相と嫌氣性相の二つの模型を考えたい(第 4 表參照)。

好氣性相と嫌氣性相とは培養の如何、主として培養の際の酸素量の如何によつて生じる相である。そして培養の狀況により相互の間に中間相の存在を考え得る。

第 4 表 赤痢菌の抗原構造と相の模型圖

總括結論

大原菌、中村菌等 2 種の赤痢菌の嫌氣性培養について實驗した結果、これらの菌の嫌氣性培養生菌には好氣性培養生菌には認められない特異の抗原が存在することを認め、これを嫌氣性抗原 anaerobic antigen と假稱し、これに對し從來の好氣性培養生菌に認められた抗原を對稱的に好氣性抗原 aerobic antigen と假稱した。

嫌氣性抗原は菌體抗原であつて、嫌氣性培養菌が好氣性培養菌免疫血清に對し難凝集性である原因となる。

嫌氣性抗原は加熱によつて減弱し、その毒性は好氣性培養菌の抗原に比較してほぼ同様である。

嫌氣性抗原の存在することより出發し、大原菌、中村菌の抗原構造を推定した結果、赤痢菌に好氣性相 aerobic phase 及び嫌氣性相 anaerobic phase の設定

を提唱した。これは抗原の變化を主とし、さらに集落菌形等の變化を伴うものである。この相は從來報告された赤痢菌の相及び型とは全く立場を變えて觀察した相である。

(本研究の要旨は昭和 24 年 10 月京都大學醫學部における日本細菌學會關西支部學會において報告した。)

本研究に對する戸谷學長の御支援を深く感謝する。また竹本技官の熱心な御協力を深謝する。なお恩師小

島三郎博士に對し心より敬意を捧げるものである。

主 要 文 研

Weil, A. J.: J. Immunol., 55(4): 363—405, 1947

小島三郎: 衛生細菌學 (公衆衛生學)

2: 250—274, 昭和 23 (1948)

福見秀雄, 中村康平, 内田達次, 岡享:

綜合醫學, 96: 6—9, 昭和 23 (1948)