マウスから分離される赤痢菌抗原を有する大腸菌 並に本菌とマウスの下痢症との関係について

小川 透 尾中のり子 宮尾 和子

名古屋市立大学医学部細菌学教室

〔受付：6月1日 1953年〕

緒言

赤痢菌抗原を有する大腸菌が分離される事は安斎、鈴木、伊達、敷波、合田、塚原、長田、Sevitt氏等により報告されている。

私達はマウスを購入飼育しその肛門から採便し遠藤氏培地を用いて分離培養を行うと赤痢菌B群2型免疫血清に凝集する大腸菌が屢々分離される事を知った。又之等のマウスを観察していると時に軟便又は下痢便を排泄し解剖して病理組織学的検査を行うと腸の迴盲部にカタル性変化を認める場合がある。

そこで私達は赤痢菌免疫血清に凝集する大腸菌をマウスから蒐集しその赤痢菌との関係を検討すると共に本菌とマウスの下痢症との関係を調査したのでその要点を報告したい。

実験方法

ガラス製の採便棒を用いてマウスの肛門から採便し之を遠藤氏培地に分離塗抹し 37°C 24時間培養後生じた大腸菌様集落につき 20倍稀釈の赤痢菌B群2型の家兎生菌免疫血清を以て試験的凝集反応を行い凝集するものがあればラッセル氏培地に穿刺及び増菌培養を行う。之につき再び前記血清で試験的凝集反応を行い、凝集すればグラム染色、乳糖、蔗糖、葡萄糖等の糖類の分解能、ラクトース牛乳培地での酸産生及び凝固性、インドール反応、Voges-Proskauer、Methylred、及び Citrate の各試験、ゼラチン液化の有無、固有運動の検査等を行い大腸菌である事を観察すると共に、他方B群2型免疫血清に対して定量的凝集反応を行い相当程度凝集するのを観察して後、分離大腸菌として保存した。

各種赤痢菌株は各研究室より分與せられ教室に保存したものを使用した。

培地は pH=7.2 の普通寒天培地、遠藤培地その他の培地を使用した。製法は常法による。

試験的及び定量的凝集反応の方法その他の実験法も常法に従った。

実験成績及び考察

〔1〕 分離菌の生物学的性状

分離した菌はグラム陰性の桿菌で芽胞をつくらない。固有運動はあるが活潑でない。鞭毛はレフレル氏染色法で1~2本染色できた場合もあるが染色し難い。普通の培地に良く発育する。分離菌は乳糖、葡萄糖及びマンニトールを分解して酸とガスを発生するが蔗糖は分解して酸とガスをつくる菌株と分解し難い菌株とある。ラクトース牛乳では酸を産生し凝固する。インドール反応陽性、M.R. 陽性、V.P. 陰性で Citrate 試験は陽性のものと陰性のものとある。ゼラチンは液化しない。即ち分離菌は大腸菌の性状を示す。なお、この分離大腸菌について IMVic System による分類を行うと E. coli I 型及び中間 II 型の菌が多い。

この他に赤痢菌血清に凝集するもので乳糖を分解せず Paracoli ではないかと思われるものを数株分離した。

〔2〕 分離菌の免疫学的性状

私達が持合せた赤痢菌B群2型、同4型及びA群I型の免疫血清に対し分離菌生菌を凝集原として定量的凝集反応を行うと第1表に示す様に程度の差はあるが何れの菌もこの種の血清に凝集した。

この凝集反応は分離菌を継代培養した後でも余り変化しないで現れるのでこの凝集はパラ凝集反応でなく分離大腸菌が赤痢菌抗原を有するのであらうと考えた。

分離菌は或いは赤痢菌抗原のみならずサルモネラ属菌

OGAWA, Tohru, ONAKA, Noriko and MIYAWO, Kazuko: About the *Escherichia coli* with *Shigellae* antigen isolated from mice and the relation between the bacilli and diarrhoea of mice. Department of Microbiology, Nagoya City University Medical School. —Jap. J. of Bact., 8(5): 627-630, 1953,

第1表 赤痢菌免疫血清に対する分離大腸菌生菌の凝集価

分離菌株	免疫血清	B群2型	B群4型	A群1型
No. 5		2560	640	320
" 7		1280	160	320
" 8		2560	1280	320
" 9		2560	1280	160
" 10		2560	2560	160
" 12		5120	2560	80
" 18		1280	1280	160
B群2型菌 (対照)		640		
B群4型菌 (対照)			2560	
A群1型菌 (対照)				1280

の抗原を持つのではないかと考えてチフス菌、パラチフスA菌、同B菌、同C菌の家兎免疫血清に対する凝集反応を行つてみたところ余り凝集せず、又分離菌免疫血清に対するチフス菌、パラチフスA菌、同B菌、同C菌の凝集反応も殆んど現われない。

第2表 分離大腸菌生菌免疫血清に対する各種赤痢菌生菌の凝集価

赤痢菌々株	免疫血清	No. 12 菌血清	No. 18 菌血清
A群 1型		1280	40
" 2 "		40	—
B群 1型 1a		640	640
" 1 " 1b		640	320
" 2 "		160	160
" 3 "		1280	160
" 4 "		320	640
" 5 "		20	80
" 6 "		1280	160
" 変異Y型		640	1280
C群 1型		—	—
" 2 "		—	80
" 3 "		—	20
" 4 "		—	40
" 5 "		—	—
" 6 "		40	80
" 7 "		80	—
D群ゾンネ菌		—	80
三方菌 I		—	—
" II		—	80
No. 12菌 (対照)		10240	5120
No. 18菌 (対照)		20480	5120

註 一は20倍血清稀釈で凝集しない事を示す。

分離菌免疫血清に対する赤痢菌の凝集反応は分離菌、No. 12 及び 18 株の家兎生菌免疫血清に対して各種赤痢菌の生菌を凝集原として凝集反応を行つた処第2表に示す様にB群に属する赤痢菌は一般に本菌血清によく凝集する事が判つた。A群1型が時に凝集する事があるが血清によつては凝集せずC群、D群及び三方菌等は殆んど凝集しない。之等の点から本菌は赤痢菌殊にB群赤痢菌と共通の抗原を有するものと考えた。

分離菌相互間の関係については分離菌 No. 12 及び 18 株の生菌免疫血清に対し他の分離菌の生菌及び 100°C 1 時間加熱菌を用いて定量的凝集反応を行つても免疫菌と同様によく凝集するから本菌は抗原上同様のものが多いのではないかと思うがこの点は更に追求したい。

大腸菌と赤痢菌との間で凝集反応が起るという様な場合この間の共通な要素として存在する家兎血清そのものの影響が考えられるので之を観る爲免疫しない正常家兎の血清2種を用意し之に対しB群2型及び4型並に分離菌4菌株の生菌及び100°C 1 時間加熱菌を凝集原として定量的凝集反応を試みた。その結果は赤痢菌も分離菌も生菌は正常家兎血清によつて40~320 倍程度まで凝集するがこれらの凝集反応は赤痢菌及び分離菌の100°C 1 時間加熱菌では消失して現われない。この正常家兎血清に対する赤痢菌及び分離菌の凝集反応が100°C 1 時間の加熱で消失する事は今後この種の研究を行う際注意すべき事と思われる。

私達の分離した菌と赤痢菌との間の交互の凝集反応は正常家兎血清に対するものより一般に著明で且つ100°C 1 時間の加熱で消失しないからその成績は菌相互間の特殊の関係と見てよい。

次に分離菌と赤痢菌との間に吸収試験を行つた。赤痢菌B群2型生菌免疫血清を分離菌 No. 12 株生菌で吸収すると吸収菌に対する凝集素が吸収されると同時に分離菌の他菌株生菌に対する凝集素も全く吸収されて了う。B群2型に対する凝集素は少し影響を受けるのみで大部分は残る。

次に分離菌 No. 12 株生菌免疫血清を赤痢菌B群2型生菌で吸収すると吸収菌に対する凝集素は吸収されるが分離菌に対する凝集素は殆んど影響を受けない。

之等の成績から分離菌と赤痢菌とは共通の抗原を有する事が明であると共にその共通抗原は双方の菌の一部の抗原として存在して居る事が判る。

分離菌、赤痢菌間の共通抗原が加熱により何んな影響を受けるかについて検討を行つた。

分離菌 14 株及び赤痢菌 A 群 1 型, 同 2 型, B 群 1, 2, 3, 4, 6 の各型菌, 変異 Y 型菌を 100°C 1 時間, 120°C 2 時間半加熱したものを凝集原として B 群 2 型生菌免疫血清に対する定量的凝集反応を行い生菌を用いて同血清に対する凝集反応を行った結果と比較して加熱の影響を観察した結果は赤痢菌血清に対する分離菌の凝集価は, 100°C 1 時間, 120°C 2 時間半の加熱により $1/2 \sim 1/16$ の程度に減少する場合が多いがしかし 120°C 2 時間半の加熱を受けても凝集原性は残存する。

注意されたのは B 群 2 型生菌免疫血清に対する A 群 1 型, B 群 1 型 (1a 及び 1b), B 群 2 型, 同 3 型, 同 4 型, 同 6 型の凝集価が 100°C 1 時間の加熱により 2~8 倍に増加した事である。之については更に検討したいと考えている。

次に前記各種赤痢菌及び 14 株の分離菌を 100°C 1 時間, 120°C 2 時間半加熱したものを凝集原として分離菌 No. 12 株生菌免疫血清に対して定量的凝集反応を行い生菌の場合と比較して, 加熱の影響を観察した結果は分離菌血清に対する赤痢菌の凝集反応は余り影響を受けない。分離菌血清に対する分離菌の凝集反応は之等の加熱により凝集価が減少する傾向がある。

この様に共通抗原は加熱の影響を受けるけれども, 120°C 2 時間半の加熱によつてもなお一部の残存する事が判つた。

〔3〕 マウスの下痢症と分離菌との関係

赤痢菌抗原を有する大腸菌がマウス糞便から検出せられる状態及び本菌とマウスの下痢症との関係について検討を行った。

本年三月動物商から購入した体重約 12 瓦のマウスをガラス製飼育瓶 1 個に 1 匹宛入れたものを 20 匹用意し 3 週間の間, 毎日その糞便から本菌の分離を試みると共に軟便, 下痢の発現を観察し最後にマウスを解剖して病理学的検査を行った。

最初の 7 日間の観察に於ては 20 匹のマウス中頻回に本菌を検出したマウスは 7 匹, 1 回だけ検出したものは 2 匹で合計 9 匹のマウスに本菌を検出し 45% の検出率であつた。残りの 11 匹即ち 55% のマウスからは本菌を検出しなかつた。

マウス糞便からの本菌の検出は本実験の前にも数回行つたが 33~45% 前後の検出率で必ずしも一定しない。興味があるのはマウスに赤痢菌 B 群 2 型生菌を経口投与した場合に本菌の糞便よりの検出率が 70~80% に増加する事である。更にマウスの下痢症は購入マウスの 15~30% に認められるが B 群 2 型生菌を経口投与した場合には 53~70% に認められた本菌検出率の増加と下痢症の増加とが平行する傾向にある事も注意を要する。

次にこの実験中に下痢症状がなく本菌を排出しないマウスに本菌の生菌を投与しその定着性と下痢の発現とを

第 3 表 赤痢菌抗原を持つ大腸菌のマウス糞便からの検出状態とマウス下痢症との関係

観察日 マウス 番号	第 1 日	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	腸の廻盲部の病理組織所見
1	0	0	0	0	0	0	0	0	$\frac{1}{1}$	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	カタル性変化軽微
3	0	0	0	0	0	0	0	$\frac{3}{3}$	$\frac{10}{10}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{2}{2}$	10	10	10	10	$\frac{3}{3}$	10	10	10	10	0	カタル性変化軽微
4	0	0	0	0	0	0	3	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	変化なし
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	変化なし
8	0	0	0	0	0	0	0	5	$\frac{1}{4}$	$\frac{2}{6}$	$\frac{3}{4}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{1}$	10	10	$\frac{10}{3/6}$	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{2}$	0	0	カタル性変化
16	0	0	0	0	0	0	0	10	0	10	10	10	$\frac{5}{5}$	$\frac{5}{5}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{1}$	0	10	$\frac{5}{5}$	$\frac{1}{1}$	0	カタル性変化軽微
5	0	10	10	10	0	0	10	$\frac{2}{2}$	$\frac{10}{10}$	10	10	10	10	10	$\frac{3}{3}$	8	$\frac{1}{4}$	$\frac{3}{3}$	$\frac{10}{10}$	$\frac{1}{1}$	0	カタル性変化
7	10	0	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	$\frac{5}{5}$	10	10	10	軽微
10	0	0	2	10	10	0	0	8	9	10	10	10	10	$\frac{2}{2}$	$\frac{5}{5}$	10	10	$\frac{7}{7}$	10	$\frac{3}{3}$	0	変化なし
13	3	10	10	10	10	$\frac{7}{7}$	10	10	$\frac{3}{3}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{1}$	10	10	$\frac{2}{2}$	$\frac{1}{1}$	10	10	0	10	$\frac{3}{3}$	0	カタル性変化軽微
14	0	7	3	5	10	5	10	10	10	10	$\frac{3}{6}$	9	$\frac{2}{5}$	0	0	0	0	0	0	0	0	変化なし
19	0	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	$\frac{7}{7}$	10	10	10	$\frac{1}{1}$	0	$\frac{3}{3}$	$\frac{6}{6}$	0	$\frac{2}{2}$	カタル性変化軽微

註 数字は検査した 10 個の集落中, B 群 2 型血清に凝集する集落の数を示す。0 は凝集する集落のない事を示す。

$\frac{3}{3}$ 等とあるは平板培地上に集落を 3 個のみ生じその 3 個が B 群 2 型血清に凝集する事を示す

□ はその日に軟便のあつた事を示す。

→印はその日, そのマウスに No. 12 株生菌を経口投与した事を示す

観察した。即ち前述の観察後7日目にこれまでの観察で本菌を検出しなかつたマウス5匹、1回だけ検出したマウス1匹計6匹に、さきに私達が分離した赤痢菌抗原を有する大腸菌 No. 12 株の生菌 2mg を各々に経口的に投與しその後2週間本菌の定着の状態、症状の発現等を観察すると共に対照として、これまでの観察で頻回に本菌を検出したマウス6匹を引きつゞき2週間の間同様に観察した。かくて12匹のマウスを3週間引きつゞいて観察した結果は第3表の様であつた。即ち軟便或いは下痢のあつたマウスは12匹中8匹でその中で腸の迴盲部にカタル性変化のあつたマウスは7匹であつた。軟便、下痢等のないマウスは4匹でその中カタル性変化が腸の迴盲部にあつたものは1匹にすぎないから症状と病理組織検査の成績とは略々一致した。

症状又は腸の病変のあつたマウス9匹の中連続的に本菌を検出したもの8匹、1時的に本菌を検出したもの1匹で、症状のあるマウスは連続的に本菌を糞便に検出した場合が多い。

症状及は腸の病変のないマウスは3匹でその中連続的に本菌を検出したもの1匹、検出しないもの2匹で、症状及は病変のないマウスは本菌を連続的には検出しない方が多い。

本菌を検出しないマウスに本菌を経口的に投與した場合に定着を認めたのは6匹中3匹でこの3例では、その後何れも軟便が認められ迴盲部に軽微のカタル性変化が見られた。経口投與で一過性にだけ本菌が認められたマウスでは3匹の中1例にだけ軟便が観察されこのマウスにカタル性変化が見られたが他の2匹では何等の症状も病理所見もなかつた。

かくて本菌を連続的に糞便より検出するマウスには下痢症状及び腸の病理学的変化を認めるものが多く本菌を連続的に検出しないマウスには、こういう症状及び病変を認めるものが少い点から本菌はマウスの下痢症と何等かの関連を有するのではないかとと思われるので更に検討を行いたいと考えている。

結 語

マウス糞便より赤痢菌免疫血清に凝集する大腸菌が分離される。本菌はマウスの約33~45%に検出され、赤痢菌中殊にB群の菌と共通抗原を持つ。この共通抗原は赤痢菌及び本菌の抗原の一部を爲すもので100°C1時間の加熱により減少するが120°C2時間半の加熱によつても一部残存する。正常家兎血清は赤痢菌及び本菌を或程度凝集するが、この凝集は100°C1時間の加熱により消失する等の事が判つた。

マウスは時に軟便、下痢便を出すがこの下痢症と本菌との関係について検討した結果下痢症のマウスの腸の迴盲部には軽度のカタル性変化が認められる事、かかる症状又は病的所見を示すマウスの大部分は頻回に本菌を排出するが症状又は病理的所見のないマウスは本菌を頻回に排出する事が少い点。本菌を検出しないマウスにこの生菌を経口的に投與すると本菌が定着しその後下痢症状を現わす事がある点から本菌はマウスの下痢症と何等かの関連があるのではないかと考える。

附 記

本研究を行うに当り北里研究所安齋博博士、合田朗博士、本学病理学教室田内久教授及び教員の方々、名古屋市城東病院戸谷徹造博士、愛知縣衛生研究所張不二造学士、その他各方面より種々御援助を受けた事を厚く感謝する次第である。本論文の要旨は昭和28年5月14日第26回日本細菌学会総会 赤痢菌の分類についてのシンポジウムで報告した。

主要文献

- 1) 鈴木武夫、安齋博、鶴見等：北里実験医学第21巻第3~4号、94~100、1948。
- 2) 鈴木重一：細菌学雑誌、第501号、60~74、昭和12年11月10日
- 3) 鈴木重一：細菌学雑誌第502号、20~77、昭和12年12月10日
- 4) 三方悦藏：細菌学雑誌第444号、56~120、昭和8年2月10日
- 5) 三方悦藏：細菌学雑誌第445号、50~59、昭和8年3月10日
- 6) 鈴木武夫、安齋博：北里実験医学第22巻第1号、47~54、1949。
- 7) 箕田貢：細菌学雑誌第258号、1~65、大正6年3月15日
- 8) 箕田貢：福岡医科大学雑誌第14巻、37~122、大正10年
- 9) 箕田貢：福岡医科大学雑誌第13巻、505~634、大正9年
- 10) 箕田貢：福岡医科大学雑誌第13巻、486~491、大正9年
- 11) 大原清之助：福岡医科大学雑誌第8巻第4号329~356、大正4年4月
- 12) 居石直資：兒科雑誌第348号、6~50、昭和4年5月20日
- 13) 伊達和男：北里実験医学第23巻第4号、163~173、1951