大野赤痢菌々体内毒素の研究 (第4報)

大野赤痢菌々体内毒素とバクテリオファージ
との関係に就いて (II)

花 新 発 実

東京大学傳染病研究所第3研究部(部長 武田徳晴教授)

〔受付: 10月22日 1953年〕

私はさきに第一報¹⁾及び第二報²⁾に於いて大野菌々体内毒素及びその各種分解産物に就いてその化学的及び生物学的性状を述べ、これが多糖体を主体とし之に蛋白及びリポイドよりなる有毒性完全抗原性複合多糖体である事を確認した。尙赤痢菌属の各型菌の間には複雑な抗原構造を示し、抗原性に於いて相互間に近縁関係が認められる事は既に知られているが、大野菌々体内毒素免疫血清をもつて交互凝集反応を行うと菌体免疫血清に於ける交叉凝集反応と殆ど並行した成績を示し志賀菌を始め各型菌の類属反応が尙著明に見られる事もさきに報告した³⁾。次で第3報³⁾に於いて大野菌々体内毒素及びその分解産物たる各分割を大野菌バクテリオファージに作用せしめると原毒素及びそのアルカリ分解産物たる有毒性多糖体分割によつてそのファージの宿主菌に対する溶菌作用は著明に阻止される事を報告した。

バクテリオファージの特異性に就いてこれが感受性菌の抗原構造と関係がある事が認められており Hadley⁴⁾以来 Burnet,⁵⁻⁸⁾ Levine⁹⁻¹¹⁾ 等の実験は共通の耐熱性の抗原物質をもつた異つた菌種の菌の間にはバクテリオファージに対する反応に於いて著明な類似性のある事を見出している。

私は前報の実験と共に大野菌以外赤痢各型菌を夫々宿主菌としたファージも分離したのでこれらのファージを用いて交叉溶菌反応及び第三報と同様の阻止実験を行い、各菌株の各型菌ファージに対する感受性の相互関係及び大野菌々体内毒素及びその分解産物たる各分割による各型菌ファージの溶菌阻止作用に就いて検討してみたので茲にその成績を報告したい。

実 験

使用菌株: 当研究室保存の志賀菌花房株, 大野菌府中株, 駒込A菌原株, 駒込Br菌原株, 駒込BIII菌原株, 昭和菌15号株, 西貢菌荒井株, 川瀬菌園口株, 中村菌傳

研株, 大原菌渡枝株, 箕田菌九大X株, 居石菌九大Y株である。何れもS型集落である事を認めて実験に供した。

使用ファージ: 豚の糞便を材料として前述の菌株を宿主菌としてブイヨン中で分離増殖せしめた。但し大原菌渡枝株のファージは2回繰返したがとり出せなかつたので11種のファージに就いて実験を行つた。

plaque count method による溶菌斑の算定等実験方法に就いては第三報に於けると全く同様に行つた。

(1) 赤痢菌各菌株の各型菌ファージに対する感受性

赤痢各型菌ファージの大野菌々体内毒素による溶菌阻止作用を調べるに先立つて、此等のファージの赤痢各型菌に対する溶菌作用を交叉的に行つた。

実験方法

各型菌ファージに対する各菌株の感受性を見るには、予め各々のファージの数を算定した後、各々のファージが1.0cc中に100~150の溶菌斑数を現わす様にファージ稀釈液を調製し、赤痢各型の菌株と交叉的反應を行いその溶菌斑数を算定した。

実験成績 (第1報)

表にみられる如く実験に供した11種の各型菌ファージは何れも多價ファージであり、その中箕田菌ファージはその固有宿主菌に対して特異的であるが他の10種の各型菌ファージに就いては特異性がみられなかつた。

各型菌に就いて見ると志賀菌は志賀及び駒込Aの各型菌ファージに強い感受性を持ち、駒込Br, 駒込BIII, 川瀬, 中村, 居石の各型菌ファージに対しても中等度の

KASHIBA, Minoru: Studies on the endotoxin of Ohno dysentery bacillus IV. Inhibition of bacteriophages by the endotoxin and its degradation products (II). The Institute for Infectious Diseases, University of Tokyo. — Jap. J. of Bact., 9(1), 13-17, 1954

第1表 赤痢各菌株の各型菌フェージに対する感受性

固有宿主菌の溶菌斑数を100とした時の各菌株の溶菌斑の溶菌斑数を比較数で現わす

使用菌株	志賀菌フェージ	大野菌フェージ	駒込A菌フェージ	駒込Br菌フェージ	駒込BIII菌フェージ	昭和菌フェージ	西貢菌フェージ	川瀬菌フェージ	中村菌フェージ	大原菌フェージ	箕田菌フェージ	居石菌フェージ
志賀菌花房株	100	0	95	64	44	0	0	58	65	—	0	84
大野菌府中株	0	100	0	0	0	116	0	0	0	—	0	0
駒込A菌原株	98	79	100	77	54	101	0	63	83	—	0	96
駒込Br菌原株	107	101	105	100	106	105	139	136	96	—	9	108
駒込BIII菌原株	79	0	118	109	100	0	9	76	85	—	9	76
昭和菌15号株	2	85	83	103	8	100	4	34	85	—	0	83
西貢菌荒井株	0	0	0	0	0	0	100	0	0	—	0	0
川瀬菌園口株	94	89	98	59	103	100	0	100	85	—	25	94
中村菌傳研株	4	0	58	44	0	0	124	1	100	—	0	5
大原菌渡枝株	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	0	0
箕田菌九大X株	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	100	0
居石菌九大Y株	39	53	128	94	7	95	137	77	105	—	0	100

感受性がある外、他のフェージには感受性を示さない。

大野菌は昭和菌フェージに対しては大野菌フェージと同等の感受性があり、他のフェージには抵抗性がある。

駒込A菌は志賀、昭和、居石の各型菌フェージに対し強い感受性を示し、大野、駒込Br、駒込BIII、川瀬、中村の各型菌フェージに対しても中等度の感受性があるが、西貢及び箕田のフェージに対しては感受性が認められなかった。

駒込Br菌は箕田菌フェージに対し非常に感受性は弱い、他のフェージに対しては夫等のフェージ固有の宿主菌株の感受性と同等或いは夫以上の感受性を示した。

駒込BIII菌は駒込A、駒込Brの各型菌フェージに対し強い感受性をもち、志賀、川瀬、中村、居石の各型菌フェージに対しても中等度の感受性があり、西貢、箕田の各型菌フェージに対しては甚だ弱いが大野菌及び昭和菌フェージに対しては溶菌斑を現わさない。

昭和菌は駒込Br菌フェージに対しては強い感受性があり、大野、駒込A、川瀬、中村、居石の各型菌フェージに対して中等度の感受性を示し、志賀、駒込BIII、西貢の各型菌フェージにも僅かに感受性を示したが、箕田菌フェージにはなかった。

西貢菌はそれに対応する西貢菌フェージのみに感受性をもち他のフェージには全く反応しなかった。

川瀬菌は志賀、駒込A、駒込BIII、昭和、居石の各型

菌フェージに対し強い感受性を示し、大野、駒込Br、中村各型菌フェージに対して中等度、箕田菌フェージに対し弱い感受性を示し、西貢菌フェージには感受性はなかった。

中村菌は西貢菌フェージに対しては甚だ強い感受性を示したが、駒込A菌及びBr菌フェージに対しては中等度、志賀、川瀬、居石の各型菌フェージには僅かな感受性を示し、大野、駒込BIII、昭和、箕田各型菌フェージには反応しなかった。

大原菌はすべてのフェージに感受性がなかった。

箕田菌は箕田菌フェージを除いてはすべてのフェージに反応しなかった。

居石菌は駒込A、駒込Br、昭和、西貢、中村の各型菌フェージには強い感受性を現わし、志賀、大野、川瀬の各型菌フェージには中等度、駒込BIII菌フェージには僅かの感受性を示し、箕田菌フェージには感受性を示さない。

以上の結果よりみて、大原菌はすべてのフェージに対して感受性がなく、箕田菌及び西貢菌は夫々固有のフェージにのみ反応している。大野菌は固有の大野菌フェージの外、昭和菌フェージに対して感受性を有している。その他の菌、即ち志賀、駒込A、駒込Br、駒込BIII、昭和、川瀬、中村、居石の各菌は夫々3種以上のフェージに対して感受性を現わすが、然し各菌の各フェージに

対する感受性は夫々相違がある。即ち駒込 Br 菌はすべてのファージに対して反応し箕田菌ファージを除いては何れのファージにもその感受性の強い事が他の菌と異なる。又昭和菌と居石菌とは反応の程度に差があるが箕田菌ファージを除いて他のファージに反応する点に於いてその感受性は甚だ近似している。駒込 A 菌と川瀬菌とは箕田菌ファージに対しては前者は感受性をもたないが、後者は僅かに感受性をもっている外は各型のファージに対する感受性は甚だ近似している。志賀菌, 駒込 BrIII 菌, 中村菌は志賀, 駒込 A, 駒込 Br, 川瀬, 中村, 居石の各型菌ファージに対し感受性を有し, 大野, 昭和の各型菌ファージに感受性を有しないが, 駒込 BrIII, 西貢, 箕田の各菌ファージに対する反応に於いて夫々相違点が見出される。

以上の実験成績よりみて赤痢各型菌は夫々各ファージに対する感受性に相違がある事が認められた。

(2) 大野菌々体内毒素による赤痢各型菌ファージの溶菌阻止作用

大野菌々体内毒素及びその分解産物がファージに対する Receptor であるとするれば, これらの分割がファージの感受性菌に対する吸着を阻止するであろうからこれに就いて次の如き実験を行った。

実験方法

各分割の無菌的溶液は第3報に述べた如く各分割をブイオンに溶解し 60°C, 30 分 3 回間歇滅菌して調製した。

実験成績

1. 原毒素 Fr. No. 23, Fr. No. 43 による各型菌ファージの溶菌阻止作用 (第2表)

志賀, 駒込 A, 駒込 Br, 駒込 BrIII, 西貢, 川瀬, 中村, 箕田, 居石の各型菌ファージによる各感受性菌の溶菌は大野菌々体内毒素によつて阻止されていない。これに対して大野菌ファージ及び昭和菌ファージは大野菌々体内毒素によつて阻止された。且つ前者は著明に阻止され後者もかなりの程度に阻止されているが前者よりやや劣っている。この事は大野菌が大野菌ファージ及び昭和菌ファージに対してのみ感受性である事に一致している。

2. 毒素分解産物たる各分割による各型菌ファージの溶菌阻止作用 (第3表)

この実験には物質少量の爲 Fr. No. 46 は大野菌及び昭和菌の両ファージに, Fr. No. 54 は大野, 昭和, 駒込 A の各型菌のファージに対してのみ行つた。

大野菌ファージに就いては第三報に於いて報告した様に Fr. No. 53 の 100 r/cc によつてその溶菌作用は原毒素には及ばないが約 $\frac{1}{3} \sim \frac{1}{4}$ 程度に不活化されている。

昭和菌ファージは Fr. No. 46, Fr. No. 50, Fr. No. 52, 及び Fr. No. 54 の各分割によつては不活化されていない。Fr. No. 53 は 100 r/cc の程度では感受性菌の溶菌を同様に阻止しないので更に 500 r/cc, 1 mg/cc, の割に作用せしめると阻止作用のある事が認められた。

第2表 原毒素による各型菌ファージの溶菌阻止作用

	志賀菌 花房株	大野菌 府中株	駒込 A 菌原株	駒込 Br 菌原株	駒込 BrIII 菌原株	昭和菌 15号株	西貢菌 荒井株	川瀬菌 園口株	中村菌 傳研株	大原菌 渡枝株	箕田菌 九大 x 株	居石菌 九大 y 株
大野菌ファージ												
対 照	0	100	80	96	0	82	0	86	0	0	0	65
Fr. No. 23	0	2	1	2	0	1	0	2	0	0	0	1
Fr. No. 24	0	1	2	2	0	0	0	1	0	0	0	0
昭和菌ファージ												
対 照	0	118	92	107	0	100	0	108	0	0	0	105
Fr. No. 23	0	26	19	26	0	24	0	34	0	0	0	26
Fr. No. 24	0	19	17	15	0	13	0	14	0	0	0	11

大野菌ファージ及び昭和菌ファージを除く他の9種の各型菌ファージについては溶菌阻止作用がみられなかつたのでその成績は省略す

第3表 毒素分解産物たる各分劃による各型菌ファージの溶菌阻止作用

	志賀菌花房株	大野菌府中株	駒込A菌原株	駒込Br菌原株	駒込BIII菌原株	昭和菌15号株	西貢菌荒井株	川瀬菌園口株	中村菌傳研株	大原菌渡枝株	箕田菌九大x株	居石菌九大y株
大野菌ファージ												
対 照	0	100	78	99	0	81	0	83	0	0	0	77
Fr. No. 50	0	99	84	81	0	86	0	92	0	0	0	73
" 52	0	98	90	97	0	81	0	88	0	0	0	74
" 53	0	28	15	22	0	21	0	21	0	0	0	12
" 54	0	94	89	98	0	81	0	80	0	0	0	65
" 46	0	96	72	97	0	86	0	81	0	0	0	78
昭和菌ファージ												
対 照	0	128	103	109	0	100	0	109	0	0	0	108
Fr. No. 50	0	128	98	98	0	103	0	113	0	0	0	105
" 52	0	134	105	90	0	101	0	112	0	0	0	104
" 53	0	112	94	120	0	118	0	105	0	0	0	115
" 54	0	104	102	127	0	100	0	116	0	0	0	125
" 46	0	80	93	97	0	97	0	101	0	0	0	98
対 照		104				100						
Fr. No. } 500r/cc		30				67						
53 } 1mg/cc		7				67						

大野菌ファージ及び昭和菌ファージを除く他の各型菌ファージについては溶菌阻止作用がみられなかつたのでその成績は省略す

其の他のファージに就いては原毒素と同様にどの分劃によつても阻止作用はみられなかつた。

総括並に考案

赤痢菌に関して Burnet⁶⁾ は Flexner 属の菌に就いてその抗原構造とファージ反應との間に一定の類縁関係があり幾つかの適当なファージを以てすればそれらの antigenic type に従つて菌株を分ける事が容易である事を報告している。今回の実験に於いて使用せる 12 種の赤痢各型菌とそれに対応する 11 種のファージ（大原菌ファージを除く）との交叉溶菌反應に就いてみるに各菌株の感受性は大野、駒込 Br、西貢、中村、箕田の各菌株は非常に特異的であり又其の他の志賀、駒込 A、駒込 BIII、昭和、川瀬、居石の各菌株の間にも夫々多少の相違がある事が認められる。

Thomen & Frobisher¹⁰⁾ は多くの菌株を集め、その糖分解能、集落の性状をみてこれらを宿主菌とする多くのファージを得て、ファージによる分類は赤痢菌属に對

する現今一般に用いられている方法では血清学的検査或は糖分解能検査に優るとは云えないけれども実地検査に於いて有用であるとして詳細な実験を行っている。私の分離したファージは何れも多價のファージであり且つ箕田菌ファージを除いてはそれらの固有宿主菌に対する特異的な感受性はみられなかつたのであるが、各菌株は夫々各型菌ファージに対して感受性を異にしているのがみられるのでこの点よりして分類学的検査に際し此等のファージを用いて補助的な検査となし得るものと考えられる。けれども此等のファージに就いて同一ファージに対する感受性菌の間には従来の分類学的な一定の関係は認める事は出来なかつた。

私はさきに第一報に於いて大野菌々体内毒素免疫血清の交叉凝集反應に就いて志賀菌との類属凝集反應が比較的強く現われた事よりして大野菌及び志賀菌の抗原性は近縁関係にあると思わせると述べたが、この度のファージの交叉溶菌反應に就いてみると志賀菌及び大野菌は全

く独立した反応を示している。即ち両菌の各型菌ファージに対する感受性も全く異っており又夫々の菌を宿主として増殖せしめたファージの感受性菌に就いても相違がみられた。用いられた赤痢各型菌ファージの中大野菌ファージ及び昭和菌ファージによる感受性菌の溶菌は大野菌々体内毒素及びそのアルカリ分解産物たる Fr. No. 53 によつて阻止された。且つその他の各型菌ファージは大野菌々体内毒素及びその分解産物たる分割によつて阻止されない。この事は前2者には後者の1群には存しない Receptor substance を有している事が考えられる。大野菌ファージ及び昭和菌ファージが大野菌に吸着する Receptor substance は大野菌々体内毒素に存する事に外ならない事は明らかである。この事は大野菌が両ファージに対してのみ感受性である事に一致する。この両ファージは同じ豚の糞便を材料として夫々大野菌及び昭和菌を固有の宿主菌として分離増殖せしめた多價のファージであるが各々の交叉反応をみるとき両者の各型菌に対する溶菌作用は相似ているのである。然るに両ファージは耐性菌交叉試験により異つたファージである事が確められた。現今の分類に従えば大野菌は赤痢菌属のA群即ち *Sh. dysenteriae* の type 2 に相当し昭和菌はB群即ち *Sh. flexneri* の type 1 に相当し明らかに分類学上異っている。且つ私のとり出した11種のファージに対する感受性も異っている。即ち大野菌は大野菌ファージと昭和菌ファージに対して同等の感受性を示し他のファージに対しては全く溶菌されないのに反し、昭和菌は駒込 Br 菌ファージに対しては強く、大野、駒込A、川瀬、中村、居石の各型菌ファージに対して中等度の感受性を示し、志賀、駒込 BrIII、西貢の各型菌ファージに対しても僅かに感受性を示したが、箕田菌ファージには感受性がなかつた。然るにこの昭和菌を宿主菌として増殖せしめたファージが大野菌を宿主菌とする大野菌ファージの交叉溶菌反応と相似た反応を示すに至つた事は豚の糞便中大野菌を感受性菌の中を含む相似た両多價ファージが夫々大野菌及び昭和菌を宿主菌として増強せしめられたものと考えられる。

原毒素 Fr. No. 23, Fr. No. 43 のファージ阻止作用は大野菌ファージに対しては強く昭和菌ファージに対してはこれよりやや弱い。又 Fr. No. 53 がその 100 τ /cc に於いて強く大野菌ファージを阻止しているに対し昭和

菌ファージはこの濃度に於いては阻止は認められず 500 τ /cc によつて認められた。この事は前者が相對應するファージとその菌からの抽出物であるによるのであろう。又 Fr. No. 53 の阻止作用が両ファージ共に原毒素の阻止作用より弱いのは分解過程に於けるアルカリの強い作用により活性の一部が破壊されているのであろうと考えられる。

結 論

1 赤痢菌各型菌を宿主菌とする夫々のバクテリオファージをとり出し、之に対する大野赤痢菌々体内毒素及びその分解産物たる各分割の特異的阻止作用を検した。

2 大野菌々体内毒素及びそのアルカリ分解産物たる多糖体分割は11種の赤痢菌ファージの中大野菌ファージ及び昭和菌ファージに対し特異的に阻止したが、この事は大野菌が両ファージに対してのみ感受性である事に一致する。

終りに終始御懇篤な御指導御鞭撻を賜つた武田教授に衷心から深謝す。

文 献

- 1) 花新発: 日本細菌学雑誌 8, 7, 727, 1953.
- 2) 花新発: 日本細菌学雑誌 8, 8, 807, 1953.
- 3) 花新発: 日本細菌学雑誌 8, 9, 905, 1953.
- 4) Hadley, P.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 23 443, 1926.
- 5) Burnet, F. M.: Brit. J. Exp. Path., 8, 121, 1927.
- 6) Burnet, F. M.: J. Path. Bact., 33, 637, 1930.
- 7) Burnet, F. M.: J. Path. Bact., 38, 285, 1934.
- 8) Gough, G. A. C. & Burnet, F. M.: J. Path. Bact., 38, 301, 1934.
- 9) Levine, P. & Frisch, A. W.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 31, 46, 1933.
- 10) Levine, P. & Frisch, A. W.: J. Exp. Med., 59, 213, 1934.
- 11) Levine, P. & Frisch, A. W.: J. Inf. Dis., 57, 104, 1935.
- 12) Chang, S. L., Condie, F. & Graham, M.: Am. J. Hyg., 52, 184, 1950.
- 13) Miller, E. M. & Goebel, W. F.: J. Exp. Med., 90, 255, 1949. Nature, 164, 744, 1949.
- 14) Goebel, W. F.: J. Exp. Med., 92, 527, 1950.
- 15) Jesaitis, M. A. & Goebel, W. F.: J. Exp. Med., 96, 409, 425, 1952.
- 16) Thomen, L. F. & Frobisher, M., Jr.: M. Am. J. Hyg., 42, 225, 1945.